



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO TECNOLÓGICO

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE  
ALIMENTOS

**INATIVAÇÃO DE *Weissella viridescens* POR RADIAÇÃO  
ULTRAVIOLETA E SEU EFEITO NA VIDA ÚTIL DE SALSICHA  
EMBALADA A VÁCUO**

Isabella Medeiros de Souza

Florianópolis

2018

Isabella Medeiros de Souza

**INATIVAÇÃO DE *Weissella viridescens* POR RADIAÇÃO  
ULTRAVIOLETA E SEU EFEITO NA VIDA ÚTIL DE SALSICHA  
EMBALADA A VÁCUO**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal de Santa Catarina apresentado como requisito para a obtenção do Título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof. Dra. Gláucia Maria Falcão de Aragão

Coorientadora: Dra. Cíntia Maia Braga

Florianópolis

2018

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que nos concedeu o dom da vida, me abençoando e sempre me socorrendo, e colocando pessoas incríveis no meu caminho. Por ter me dado sabedoria e me conduzir até aqui, ter me concedido esta oportunidade de completar mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais, Luiz e Eliane, e meu irmão, Luiz Arthur, sempre me apoiaram, me incentivaram e me ajudaram nas horas que precisei, por serem pacientes e nunca desistirem de mim. Muita coisa que aconteceu na minha vida foi graças a vocês. Amo vocês.

Aos meus amados avós, vovô Carlos e vovó Mafalda, donos de um coração enorme e que sempre estiveram de braços abertos, nunca pouparam esforços, sempre estiveram ali.

Ao Paulo, que mesmo de longe, sempre me ajuda e me apoia em todos os momentos, por todo amor e paciência. Obrigada por me ajudar a vencer a distância nesse último ano, juntos somos mais fortes. Te amo!

À minha orientadora, Prof. Dra. Gláucia, que aceitou me orientar e pela grandiosa e valiosa colaboração com o conhecimento no desenvolvimento dessa pesquisa.

À Cíntia, por ter me convidado para realizar essa pesquisa ao lado dela, e pelo conhecimento que me passou durante esses últimos anos de trabalho. Mereces todo o sucesso do mundo, amiga!!

À banca examinadora, Andréia e Natielle, por terem aceitado o convite e por sempre estarem dispostas para ajudar quando era solicitado.

Às minhas amigas de faculdade, Ana, Helena, Leticia e Renata, que deixaram esses anos de graduação mais leves e divertidos, não seria a mesma coisa sem vocês! Obrigada por todas as risadas e momentos que passamos juntas!

Às minhas amigas de barriga, Beatriz e Débora, por sempre estarem ao meu lado, serem as irmãs que nunca tive. Vocês são muito importantes para mim!

Agradeço também aos colegas do ENGEPIO, onde contribuíram de alguma forma no desenvolvimento deste trabalho e na companhia do dia a dia no laboratório.

Por fim, a todos os meus familiares e amigos.

Muito obrigada!

“Pois o Senhor é quem dá sabedoria; de sua boca procedem o conhecimento e o discernimento.”

**Provérbios 2:6**

## RESUMO

Na indústria alimentícia, é observado que há diminuição da vida útil de salsicha devido à presença de bactérias ácido lácticas (BAL), que compõem o principal grupo de microrganismos deteriorante de produtos cárneos, refrigerados e embalados a vácuo. A bactéria *Weissella viridescens* destaca-se como uma das principais BAL deteriorantes. Métodos não térmicos tem sido investigados para a inativação de microrganismos deteriorantes, dentre eles, a radiação UV-C, que age diretamente no DNA do microrganismo. Além da elucidação de técnicas de inativação, se faz necessário o estudo do comportamento destas bactérias durante o armazenamento do alimento. Um dos principais fatores que afetam o crescimento microbiano e sua variação durante os processos em que o alimento é submetido é a temperatura. Com isso, o uso de modelos matemáticos para descrever o crescimento microbiano variando a temperatura tem grande importância na predição da vida útil de alimentos. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito do tratamento por radiação UV-C sobre a vida útil de salsicha embalada a vácuo na presença de *W. viridescens*; avaliando assim a diferença no crescimento dessa bactéria quando é aplicado ou não a radiação UV-C; e modelar o crescimento em condições não isotérmicas utilizando o modelo proposto por Martins (2015), que utilizou parâmetros obtidos em meio de cultura. Foi observado um aumento de mais ou menos 22 dias na vida útil das salsichas irradiadas com uma intensidade de  $1,93 \text{ W/m}^2$  em relação às não tratadas. Foi realizada também a caracterização da salsicha pelo pH, atividade de água e concentração de cloreto de sódio, os quais encontravam-se dentro da faixa ótima de desenvolvimento de BAL. O modelo matemático proposto por Martins (2015) para crescimento de *W. viridescens* em meio de cultura não previu bem o crescimento do microrganismo em salsicha com ou sem efeito da radiação. Sendo assim, pode-se concluir que a radiação UV-C pode ser usada com êxito no prolongamento da vida útil da salsicha, possibilitando o uso deste método em indústrias alimentícias, porém o modelo preditivo proposto pela literatura para BAL, em meio de cultura, não é indicado para prever a vida útil desse alimento.

**Palavras-chave:** salsicha embalada a vácuo, crescimento microbiano, bactéria ácido láctica, *Weissella viridescens*, radiação UV-C, vida útil.

## ABSTRACT

In food industry, it is observed that there is a decrease in shelf life of sausage due to the presence of lactic acid bacteria, which is the main group of microorganisms that deteriorate meat products, refrigerated and vacuum packaged. One of the main factors that affect the microbial dynamics and their variation during the processes in which food is submitted is the temperature. Therefore, the use of mathematical models to describe the microbial behavior varying temperature has great importance in the prediction of the useful life of food. An alternative found to inactivate this bacterium is the treatment of ultraviolet radiation, a non-thermal process acting directly on the DNA of the microorganism. The objective of this work is to evaluate the effect of UV-C radiation under the shelf life of sausage in the presence of *W. viridescens*; the difference observed in the growth of this bacterium when UV-C radiation is applied or not; and the predictive capacity of the model predicted by Martins (2015), who obtained parameters using non-isothermal in Man, Rogosa e Sharpe (MRS) culture medium. Experimental tests were performed on sausage, and the food that underwent UV-C radiation treatment (with an intensity of  $1.93 \text{ W/m}^2$ ) had an increase of about 22 days in its useful life. It was also carried out, characterization of the sausage by pH, water activity and sodium chloride concentration, which were within the optimal range of BAL development. The mathematical model proposed by Martins (2015) for *W. viridescens* growth in culture medium did not predict well the growth of the microorganism in sausage with or without radiation effect. Thus, it can be concluded that UV-C radiation can be successfully used in prolonging the shelf life of the sausage, allowing the use of this method in food industries, but the predictive model proposed in the literature for BAL in culture medium, it is not indicated to predict the useful life of that food.

**Keywords:** vacuum packed sausage, inactivation, lactic acid bacteria, *Weissella viridescens*, UV-C light, predictive microbiology, shelf life.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espectro eletromagnético.....	20
Figura 2: Curva de crescimento microbiano sob condições ambientais constantes.....	23
Figura 3: Equipamento de radiação.....	29
Figura 4: Inoculação da bactéria <i>W. viridescens</i> na salsicha.....	30
Figura 5: Disposição das salsichas e dos dataloggers na BOD. ....	31
Figura 6: Salsicha embalada a vácuo com e sem (controle) tratamento de radiação UV-C na intensidade 1,93 W/m <sup>2</sup> .....	32
Figura 7: Fluxograma ilustrativo do processo experimental para o crescimento de <i>W. viridescens</i> em salsichas embaladas a vácuo.....	33
Figura 8: Crescimento da bactéria <i>W. viridescens</i> em salsichas embaladas a vácuo com e sem radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m <sup>2</sup> - experimento 1. ....	38
Figura 9: Crescimento da bactéria <i>W. viridescens</i> em salsichas embaladas a vácuo com e sem radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m <sup>2</sup> - experimento 2. ....	38
Figura 10: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo não submetida à radiação UV-C (experimento 1).....	41
Figura 11: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m <sup>2</sup> por 5 segundos (experimento 1).....	42
Figura 12: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo não submetida à radiação UV-C (experimento 2).....	42
Figura 13: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de <i>W. viridescens</i> em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C na intensidade de 1,93 W/m <sup>2</sup> por 5 segundos (experimento 2).....	43

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Faixas de radiação ultravioleta. ....	20
Tabela 2: Modelo secundário escolhido para descrever a interferência da temperatura sobre o parâmetro velocidade específica máxima de crescimento de <i>W. viridescens</i> .....	34
Tabela 3: Médias e desvios padrão das análises realizadas na salsicha. ....	36
Tabela 4: Resultados do tempo de vida útil.....	39



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
1.1 OBJETIVOS .....	12
1.1.1 Objetivo Geral .....	12
1.1.2 Objetivos Específicos .....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	13
2.1 SALSICHA.....	13
2.1.1 Microrganismos deteriorantes de produtos cárneos .....	13
2.2 ESTUDO DA VIDA ÚTIL.....	15
2.3 CONSERVAÇÃO .....	16
2.3.1 Uso de temperatura para conservação .....	18
2.3.2 Embalagem a vácuo.....	18
2.3.3 Radiação ultravioleta .....	19
2.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA.....	21
2.4.1 Modelos primários de crescimento.....	22
2.4.2 Modelos secundários .....	25
2.4.3 Modelos não isotérmicos .....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA SALSICHA .....	27
3.2 MICRORGANISMO.....	28
3.3 EQUIPAMENTO DE RADIAÇÃO UV-C .....	28
3.4 PREPARO DO PRÉ INÓCULO .....	29
3.5 PREPARO DAS SALSICHAS PARA O EXPERIMENTO DE CRESCIMENTO .....	30
3.6 MODELAGEM MATEMÁTICA .....	33
3.6.1 Modelo primário.....	33
3.6.2 Modelos secundários .....	34
3.6.3 Predição do crescimento de <i>W. viridescens</i> .....	34

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1 CARACTERIZAÇÃO DA SALSICHA .....	36
4.2 CRESCIMENTO DE <i>W. viridescens</i> COM E SEM TRATAMENTO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.....	37
4.3 CRESCIMENTO DE <i>W. viridescens</i> EM CONDIÇÕES NÃO ISOTÉRMICAS .....	40
5 CONCLUSÃO.....	45
6 REFERÊNCIAS .....	46

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o consumo de produtos rápidos e com maior praticidade vem se ampliando cada vez mais, em resposta às necessidades do cotidiano apressado. Com isso os embutidos, por exemplo, aparecem com mais frequência na alimentação das pessoas.

Dentre os embutidos, a salsicha é um dos mais populares no Brasil e no mundo. Esses produtos surgiram com a finalidade de facilitar as preparações e aumentar o prazo de validade dos alimentos cárneos. A salsicha é produzida à base de carne, porém possui maior teor de gordura saturada em relação à carne natural.

A carne, sendo um alimento perecível, apresenta vida útil curta, sendo de extrema importância os cuidados no processamento e no armazenamento da mesma. Para garantir o tempo de vida no qual o alimento se mantém seguro, podem ser utilizadas alternativas que façam com que o alimento se conserve por um maior período.

É crescente a busca por alimentos de qualidade, desafiando as indústrias a buscarem alternativas a tecnologias que se adequam a demanda do consumidor. Um método físico de conservação, é a radiação ultravioleta (UV-C), que pode inativar ou retardar o crescimento dos microrganismos presentes na carne.

Chun et al. (2009) utilizaram radiação UV-C em presunto fatiado para inativar microrganismos patogênicos. Manzocco et al. (2016) utilizaram esta mesma radiação na inativação de leveduras, bactérias ácido lácticas e fungos em fatias de abacaxi, obtendo resultados satisfatórios no aumento da vida útil desse produto.

A microbiologia preditiva tem como objetivo favorecer a qualidade e a segurança microbiológica dos alimentos. Esta ferramenta descreve, através de modelos matemáticos, o crescimento microbiano em diferentes condições ambientais, como por exemplo, condições de armazenamento, temperatura, umidade e pH, fazendo com que seja possível avaliar a vida útil, bem como, analisar riscos e desenvolver novos produtos.

Com base nesses aspectos, o presente trabalho tem como objetivo estudar o efeito da inativação da bactéria láctica *Weissella viridescens* por radiação UV-C sobre a vida útil de salsicha embalada a vácuo, comparando à vida útil de salsicha que passou pela radiação com a não irradiada.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é determinar o efeito da radiação UV-C na vida útil de salsicha embalada a vácuo contaminada por *Weissella viridescens*.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

Para que o objetivo geral fosse alcançado, os seguintes objetivos específicos foram definidos:

- Caracterizar a salsicha utilizada, quanto ao seu pH, atividade de água e concentração de cloreto de sódio para verificar a influência da característica da salsicha sobre o crescimento de *W. viridescens*;
- Comparar os dados de crescimento de *W. viridescens* com e sem tratamento de radiação ultravioleta, em condições não isotérmicas, com a predição do modelo proposto por Martins (2015) para BAL que não sofreram irradiação;
- Comparar o tempo de vida útil entre a salsicha que passou por tratamento de radiação ultravioleta e a que não foi irradiada;

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 SALSICHA**

Produtos cárneos processados ou preparados são aqueles em que as propriedades originais da carne fresca foram modificadas através de tratamento físico, químico ou biológico, ou por meio da combinação destes tratamentos. Normalmente, o processo envolve cortes cárneos ou combinação destes, adição de condimentos, especiarias e aditivos diversos (PARDI et al., 1996).

O Decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017 define embutido como sendo produtos cárneos elaborados com carne ou com órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltório a tripa, a bexiga ou outra membrana animal.

Segundo a Instrução Normativa SDA - 4, de 31/03/2000, define-se salsicha como um produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural, ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado.

A produção de embutidos engloba produtos cárneos ou não cárneos como ingredientes, onde cada um exerce uma função específica de acordo com a sua propriedade. Como a matéria prima dos ingredientes cárneos pode ser obtida de diversas fontes, isso acarreta em uma grande variação quanto à sua composição (REIS, 1999).

Nesta mesma normativa, consta que as salsichas deverão ser embaladas com materiais adequados para as condições de armazenamento e que assegure uma proteção apropriada contra a contaminação.

#### **2.1.1 Microrganismos deteriorantes de produtos cárneos**

A carne constitui uma fonte básica de proteína e é rica em aminoácidos, como também, contém umidade, gordura, vitaminas do complexo B e minerais, sobretudo o ferro (RICE, 1976; PARDI et al., 1995). Suas características intrínsecas e extrínsecas têm como consequência um excelente meio de cultura para os microrganismos, sendo alguns destes: alta atividade de água; pH favorável para a maioria dos microrganismos e elevado teor de nutrientes. Além disso, não possui constituintes antimicrobianos (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

As carnes e os seus derivados são facilmente contaminados por microrganismos durante sua manipulação e o seu processamento, onde se utilizam as mais diversas partes do animal. Devido a isso, a quantidade e os tipos de microrganismos que se desenvolvem nestes produtos dependem dos fatores *ante* (antes do abate) e *post mortem* (após o abate) como: alimentação, genética, idade, condições de abate, resfriamento após o abate, maturação, métodos de cocção, entre outros (FELÍCIO, 1993). Sendo assim, seu controle microbiológico é um fator importante para assegurar a qualidade do produto e, principalmente, a saúde do consumidor (CARVALHO, 2006; BRASIL, 2000).

Dentre os microrganismos deteriorantes de produtos cárneos destacam-se os Gram-negativos como *Pseudomonas*, *Acinetobacter* e *Flavobacterium*, que crescem na superfície do alimento e os Gram-positivos como *Lactobacillus*, que predominam no seu interior. A deterioração pode causar alterações físicas, químicas ou organolépticas, isto é, alterações na cor, odor, textura, sabor, ou aspecto desses produtos, consequentes da atividade metabólica dos microrganismos presentes (TAVARES, 2002).

Bactéria ácido lácticas (BAL) são microrganismos conhecidos por deteriorar alimentos, e dentre elas destaca-se a *W. viridescens* como uma das principais deteriorantes de alimentos cárneos embalados a vácuo, isto é, em condição de microaerofilia.

#### 2.1.1.1 Bactérias ácido lácticas

BAL constituem um grupo de bactérias Gram-positivas (AXELSSON, 2004), microaerófilas ou anaeróbias facultativas, necessitando assim, baixas concentrações de oxigênio para se desenvolver, sem motilidade, que podem ser cocos ou bacilos não formadores de esporos, os quais obtêm energia pela fermentação de carboidratos, produzindo ácido lático como o maior produto da fermentação (MASSAGUER, 2006).

A BAL faz parte da microbiota do trato gastrintestinal, respiratório superior e urogenital inferior de diferentes espécies animais, sendo naturalmente encontradas em habitats nutritivos, como vegetais, grãos, leite, carne e seus derivados (TANNOCK et al., 1999; RESENDE, 2011).

Este grupo de bactérias é formado por treze gêneros bacterianos: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Paralactobacillus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* (LEISNER, 2000; JAY et al., 2005). Esses microrganismos recebem a denominação de BAL

devido ao principal produto de seu processo fermentativo, o ácido láctico, alterando o pH do alimento.

As carnes são sensíveis à deterioração microbiana por causa de suas propriedades como atividade de água, pH e inúmeros nutrientes. Nestes alimentos, as BAL, principais responsáveis pela deterioração de produtos cárneos, fazem parte de uma microbiota inicial a qual se desenvolve facilmente após o seu processamento, estocadas a baixas temperaturas, embaladas a vácuo ou em atmosfera modificada (BORCH et al., 1996; HUGAS, 1998; KORKEALA e BJÖRKROTH, 1997 e SAMELIS et al., 2000a).

Collins et al. (1993) descreveu pela primeira vez a BAL cujo o gênero é *Weissella*, que, com base nas sequências de rRNA 16S, reclassificou as espécies *Leuconostoc paramesenteroides* e espécies relacionadas, tais como *Lactobacillus confusus*, *Lactobacillus halotolerans*, *Lactobacillus kandleri*, *Lactobacillus minor*, e *Lactobacillus viridescens* para o novo gênero *Weissella*.

*W. viridescens* é uma BAL conhecida por causar deterioração na superfície de carnes curadas, carne picada, hambúrguer, salsicha, entre outros (FARAG e KORASHY, 2006). O seu crescimento é observado, mesmo sob refrigeração, em produtos cárneos embalados a vácuo e em diferentes condições, sendo fortemente influenciado pela temperatura de armazenamento. (KOUTSOUMANIS et. al, 2006; CAYRÉ et al., 2007).

Há uma associação entre *Weissella* com os processos de deterioração em produtos à base de carne, tais como o aparecimento de manchas verdes na sua superfície. Isto ocorre devido a capacidade de produzir  $H_2O_2$ , reagindo com o pigmento hemochromogen (hemocromogênio) da carne para formar cholemyoglobin, esta dá origem a cor verde (COMI et al, 2007; JAY, 2000; NIVEN E EVANS, 1957; PEIRSON et al., 2003; SCHILLINGER et ai, 2006).

## 2.2 ESTUDO DA VIDA ÚTIL

Em determinadas condições de temperatura, umidade relativa, luz, etc, o termo *vida útil* é o tempo em que o alimento pode ser preservado com qualidade satisfatória, sob alterações estabelecidas que são consideradas aceitáveis pelo fabricante, pelo consumidor e pela legislação alimentar vigente (COSTA, 2005; FREITAS, BORGES E HO, 2001; VITALIE QUAST, 1996; NEW ZEALAND, 2005). Um dos fatores que interferem na qualidade e na vida útil de alimentos é a presença e crescimento de bactérias (WIJTZES et al., 2001).

Para garantir a vida útil dos alimentos e a sua segurança microbiológica, deve-se minimizar níveis de contaminação, limitando ou impedindo a taxa de crescimento microbiano.

Estratégias vêm sendo adotadas pelas indústrias alimentícias, introduzindo novas tecnologias, novas embalagens, métodos de conservação, como também em programas de qualidade. Sendo a temperatura um fator essencial para assegurar a vida útil dos alimentos (McMEEKIN et al, 1997).

Nos alimentos, a multiplicação ou a sobrevivência de microrganismos patogênicos ou deteriorantes é determinada pelas propriedades dos alimentos, como a atividade de água, o pH, e outros fatores intrínsecos, bem como pelos extrínsecos, podendo atuar como barreiras para multiplicação de microrganismos. A teoria dos obstáculos (*hurdle technology*) é a combinação dos parâmetros conhecimento e a utilização, permitindo controlar a vida útil, bem como a estabilidade microbiológica e o impedimento da multiplicação dos microrganismos e/ou produção de toxinas por patogênicos eventualmente presentes (DE MARTINIS; ALVES; FRANCO, 2002).

### 2.3 CONSERVAÇÃO

Os alimentos, em geral, devem estar de acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), para serem considerados aptos para o consumo e possam ser disponibilizados nos pontos de venda (BRASIL, 2001).

A indústria alimentícia cada vez mais busca técnicas diferenciadas, tendo como desafio desenvolver produtos de qualidade microbiológica que não prejudiquem a saúde dos consumidores. Para que isso ocorra, é de extrema importância o controle das condições higiênico-sanitárias às quais os alimentos são submetidos durante o seu processamento até a chegada ao consumidor.

A conservação de alimentos ocorre através de processos que adiam ou previnem as reações físico-químicas, bioquímicas e microbiológicas, responsáveis pela degradação e alterações dos mesmos. Alguns exemplos utilizados são a redução de atividade de água (concentração, secagem e desidratação) e uso de frio (resfriamento e congelamento), reduzindo a velocidade das reações, aplicação de calor (tratamentos térmicos como pasteurização e esterilização), inativando os microrganismos e enzimas que deterioram o alimento, e redução de pH (acidificação) seguida de tratamento térmico, restringindo o crescimento de microrganismos (FELLOWS, 2006).



Existem vários métodos de conservação para alimentos, tanto químicos como físicos. Porém, o uso de métodos químicos acarreta em preocupações com os possíveis efeitos tóxicos ao organismo exposto.

Com o objetivo de prevenir ou retardar a deterioração de microrganismos em alimentos, a utilização de agentes químicos é frequente, e os compostos químicos como conservadores e suas quantidades adicionadas nos alimentos são regulamentadas através de uma legislação específica. A Portaria nº 1.004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), contém os seus limites máximos de uso e a atribuição de suas funções na categoria de Carne e Produtos Cárneos. A sua eficiência depende de certos fatores, como: concentração utilizada, temperatura e tempo de armazenamento, além das características intrínsecas dos alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 1996).

Os alimentos de forma geral, industrializados ou não, podem conter uma alta variedade e quantidade de microrganismos, podendo alterar sua vida útil, ou causar doenças. Devido a isto, surgiram diversos recursos com a finalidade de inativar ou controlar os microrganismos em alimentos. Entretanto, o consumidor cada vez mais busca alimentos mais naturais, não tendo a adição de produtos químicos, que não tenham sido submetidos a nenhum tipo de processamento industrial ou que sejam minimamente processados, interferindo assim na qualidade nutricional dos alimentos. Além disso, os consumidores acreditam que os conservadores químicos são perigosos para a saúde, até mais perigosos que os próprios microrganismos que esses produtos possam controlar (MURIANA, 1996).

A utilização de lâmpada germicida, como a UV-C, é uma das técnicas utilizadas no controle de microrganismos. As principais vantagens do uso dessa radiação são: não forma subprodutos tóxicos, tais como os compostos halogenados (*THM's*) comumente gerados durante a cloração, a relativa simplicidade de operação e funcionamento, e a possibilidade de instalação do sistema fotoquímico em um espaço físico reduzido (LAZAROVA et al., 1999; CHIN E BERUBE, 2005; KOIVUNEN e HEINONEN TANSKI, 2005).

A temperatura pode sofrer uma variação no processo de produção e distribuição dos alimentos (NYCHAS et al., 2008; LONGHI et al., 2013). Outros fatores que influenciam na vida útil, além da temperatura, é o uso da embalagem e o emprego de radiação ultravioleta.

### 2.3.1 Uso de temperatura para conservação

Um dos fatores extrínsecos mais importantes para o controle de crescimento de microrganismos é a temperatura, devido ao fato que ela pode variar durante a cadeia de produção e distribuição de alimentos perecíveis, onde a exposição a diferentes temperaturas pode comprometer a qualidade do produto (FU; LABUZA, 1992; VAN IMPE et al., 1992; TREMARIN, 2013).

Sendo a temperatura um dos principais fatores responsáveis pelas reações de deterioração, o desenvolvimento bacteriano em produtos embalados também pode ser influenciado pela atividade de água e a disponibilidade de oxigênio, que pode determinar o tipo e a quantidade de microrganismos que poderá se desenvolver nas carnes e produtos cárneos (DEVLIEGHERE et al., 1998 (a); LABADIE, 1999; CAYRÉ et al., 2003).

Uma pesquisa feita por Cayré et al., (2005), mostrou que ao avaliar o efeito da permeabilidade gasosa das embalagens e da temperatura de armazenamento (0°C, 8°C e 15°C) no crescimento de BAL e *Brochothrix thermosphacta* em produtos cárneos cozidos, a temperatura agiu de forma significativa na população dessas bactérias. Porém, quando analisada a permeabilidade gasosa, esta influenciou apenas no desenvolvimento de *Brochothrix thermosphacta*.

Ferreira (2004) estudou o efeito da temperatura de estocagem de presunto fatiado sobre o crescimento de bactérias ácido lácticas, e concluiu que a temperatura tem uma grande importância na vida útil dos alimentos, pois as BAL atingiram a fase estacionária em 51, 18 e 14 dias às temperaturas de 5, 8 e 15 °C, respectivamente.

### 2.3.2 Embalagem a vácuo

A embalagem está presente no mundo todo, através de diversos produtos embalados, sejam eles de forma industrial ou não. Elas se diferenciam conforme as atividades e projetos a que se destinam (KOTLER, 2000).

Segundo Sarantópoulos & Oliveira (1994), as embalagens influenciam na qualidade e durabilidade de carnes frescas e derivados, interferindo no ambiente ao redor do produto ao propiciar condições que retardam as reações de deterioração. Outra propriedade da embalagem é a prevenção da evaporação da umidade do produto, que evita perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma. Assim, a embalagem se torna um fator importante para a

manutenção da qualidade inicial de carnes e derivados, mesmo após longos períodos de estocagem.

Existe uma tendência de crescimento no mercado de embalagens a vácuo para carnes e derivados. Essa embalagem cria uma barreira a gás, alterando a atmosfera gasosa ao redor da superfície do produto. O oxigênio que resta no interior da embalagem é consumido pela atividade metabólica da carne e das bactérias. Dessa maneira, cria-se um microssistema anaeróbio/microaeróbio, que com a ajuda do efeito inibitório do CO<sub>2</sub> liberado na respiração de microrganismos, retarda o crescimento de bactérias deteriorantes, como as *Pseudomonas*, permitindo a predominância de BAL, que têm menor potencial de deterioração e crescimento limitado a baixas temperaturas. Isto resulta em uma vida útil mais longa comparada ao de produtos expostos ao ar, principalmente se a estocagem for realizada na faixa de -1°C a 3°C (SARANTÓPOULOS & OLIVEIRA, 1994).

A extensão da vida útil de um produto embalado em atmosfera modificada é devido à baixa concentração de O<sub>2</sub>, controlando as bactérias aeróbias que são as principais responsáveis pela deterioração. Outro fator que aumenta a vida útil dos alimentos embalados, é a alta concentração de CO<sub>2</sub>, este tem efeito antimicrobiano em concentração igual ou acima de 10%, que aumenta conforme se eleva sua concentração na embalagem. Já com 20% de CO<sub>2</sub>, é possível controlar o crescimento de muitos aeróbios, como por exemplo *Pseudomonas spp.*, *Acetobacter spp.* e *Moraxella spp.*, contudo, altas concentrações podem estimular o crescimento de *Clostridium botulinum* (FLOROS; MATSOS, 2005).

### 2.3.3 Radiação ultravioleta

Descoberta em 1801 pelo físico Johann Wilhelm Ritter, a radiação ultravioleta (UV) atua em estruturas atômicas alterando o DNA das moléculas, rompendo algumas cadeias de carbono, sendo muitas essenciais à vida, afetando os seres vivos e alguns materiais (SEELIG, 2003).

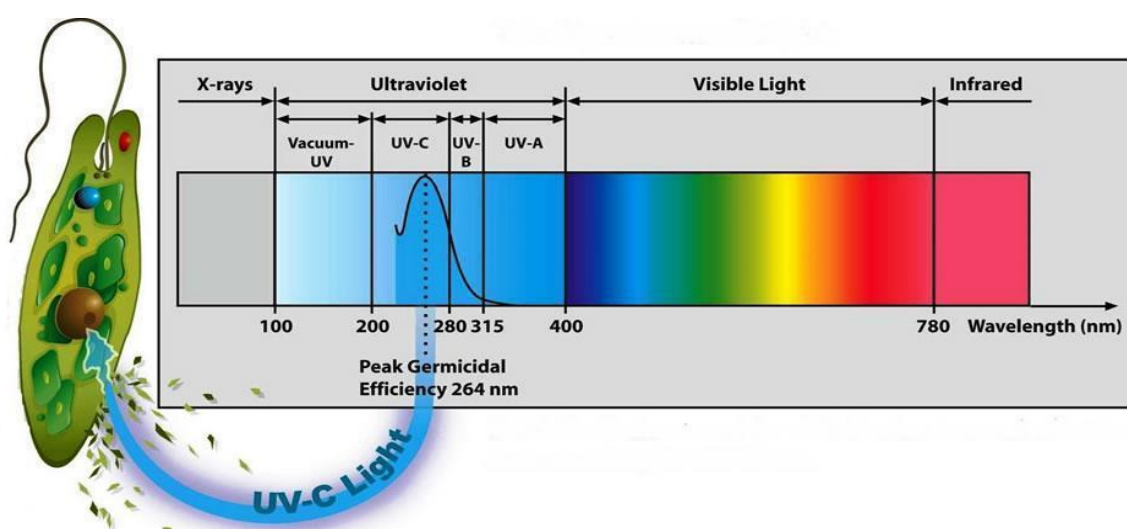
As faixas de radiação que compreendem a luz UV são classificadas em faixas A, B e C. Na Tabela 1 e na Figura 1, podemos observar o comprimento de onda de cada faixa de radiação. A faixa B causa queimaduras, já a faixa de radiação A é usada para tratamentos médicos e bronzeamento. A UV-C, pode causar irritação de pele e olhos, destrói microrganismos como vírus, bactérias, fungos, leveduras e mofos além de algas e protozoários.

Tabela 1: Faixas de radiação ultravioleta.

Denominação	Intervalos de $\lambda$ (nm)
UV-C	100 a 280
UV-B	280 a 315
UV-A	315 a 400

Fonte: POZZEBON, P. H. B., RODRIGUES, N. V., 2009.

Figura 1: Espectro eletromagnético.



Fonte: (AUXTRAT, 2008).

Roentgen e Becquerel em 1895, foram os pioneiros no emprego da radiação em alimentos, com o descobrimento dos raios - X. Em 1921, foi utilizada pela primeira vez para inativação de triquinose em carne de porco, pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (DIEHL, 2002).

Os processos não térmicos vêm sendo aplicados para a preservação de alimentos sem causar os efeitos adversos do uso do calor, como por exemplo, alterar cor, perder nutrientes, entre outros. Um exemplo desses métodos de preservação é a utilização de radiação UV-C em alimentos, que vêm sendo bastante estudada por sua eficiência como tratamento sanitizante da água e da superfície de diversos materiais (LÓPEZ-MALO, PALOU, 2005).

A radiação UV-C altera o material genético de bactérias, vírus e fungos, bloqueando sua replicação. Causa danos fotoquímicos na estrutura dos microrganismos como desnaturação proteica e desorganização da parede celular (EVANGELISTA, 2015). Na faixa de 254 nm, a

radiação atinge a sua máxima eficiência, onde ocorre a formação de dímeros de timina, inibindo a replicação celular (GUERRERO-BELTRAN; BARBOSA-CÁNOVAS, 2004).

Algumas consequências desses mecanismos são: modificação da parede celular, aumento da atividade antioxidante, acúmulo de compostos antimicrobianos e compostos fenólicos (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009; TIECHER, 2010).

O pH e a temperatura não influenciam o tratamento com UV-C. Para acontecer a inativação microbiana, a radiação deverá atingir diretamente o microrganismo, pois é uma técnica superficial de desinfecção (SOUZA, 2012).

O tratamento UV-C se destaca por não deixar resíduos nos produtos finais, tratamento não térmico, não forma subprodutos tóxicos ao consumo humano, não deixa cheiro no alimento irradiado (ALOTHMAN et al., 2009; SHEN et al., 2013; EVANGELISTA, 2015; KEYSER et al., 2008).

## 2.4 MICROBIOLOGIA PREDITIVA

Microbiologia preditiva (MP) surgiu para auxiliar os estudos da microbiologia de alimentos moderna, onde se aplicam modelos matemáticos contribuindo para o conhecimento do comportamento microbiano, possibilitando realização de análises de risco, avaliação dos efeitos de processamentos, distribuição e estocagem na qualidade e segurança microbiológica, predição da vida útil dos alimentos, bem como auxiliar nas tomadas de decisões diárias (McDONALD, SUN, 1999).

Aproximadamente em 1920, começou a utilização dos modelos matemáticos, através do desenvolvimento de métodos para calcular o tempo de destruição térmica de microrganismos. Entretanto, a partir da década de 1980, desenvolveu-se o uso dos modelos matemáticos com o objetivo de prever o comportamento dos microrganismos (NAKASHIMA et al., 2000; CARRASCO et al., 2012).

Na microbiologia preditiva, os modelos matemáticos descrevem o crescimento de microrganismos em diferentes condições físico-químicas, e podem ser usados para prever a segurança e a vida útil dos alimentos (FERREIRA, 2004).

Estes modelos representam uma forma simplificada da realidade, sendo um conjunto de considerações e hipóteses que resulta em equações matemáticas, podendo ser programadas em uma ferramenta computacional (ZWIETERING; DEN BESTEN, 2011).

Os modelos preditivos na microbiologia de alimentos possuem algumas vantagens, que incluem: descrevem o comportamento de microrganismos em diferentes condições físico-químicas, preveem as consequências microbiológicas na estocagem de alimentos, avaliam a eficiência da higiene do processamento e distribuição, determinam o efeito de falhas nas condições de armazenamento, preveem a segurança microbiológica de um produto, predizem a vida útil, auxiliam na análise de perigos e pontos críticos de controle, no desenvolvimento de novos produtos e na análise de risco (BARANYI; ROBERTS, 1994; NEUMEYER et al., 1997).

Os modelos utilizados podem ser classificados em modelos primários, secundários e terciários. Os primários descrevem a variação da população microbiana em função do tempo, sob condições constantes. Já os secundários, tem como objetivo descrever as respostas de um ou mais parâmetros do modelo primário a uma ou mais condições ambientais (HUANG, 2014).

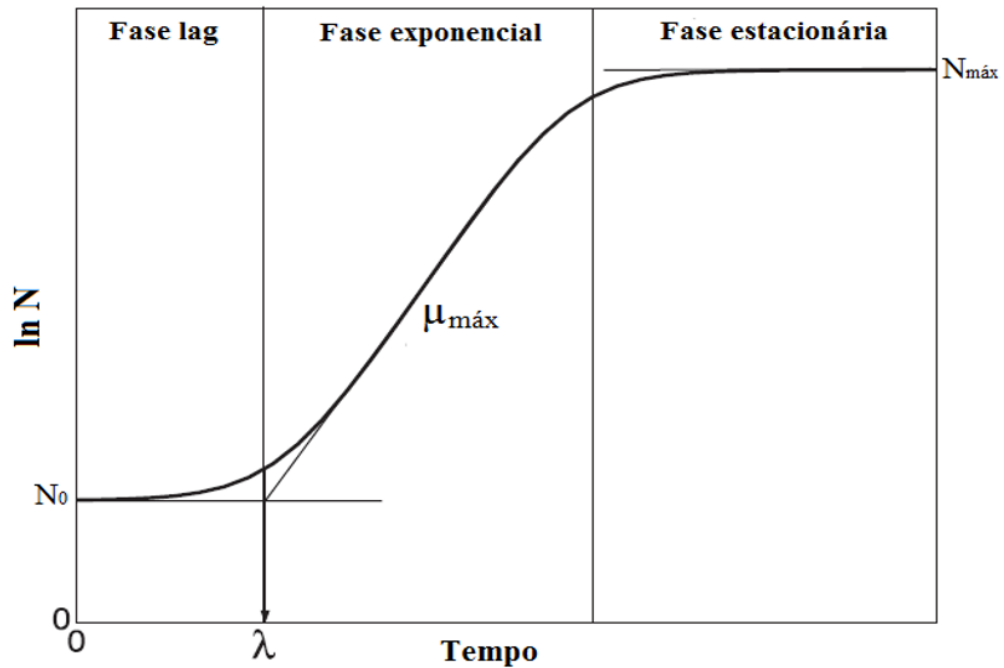
#### **2.4.1 Modelos primários de crescimento**

Segundo Whiting e Buchanan (1993), modelos primários são usados para representar a curva de crescimento microbiano com o tempo, sob determinadas condições ambientais constantes.

O crescimento microbiano é dividido em diferentes fases. Na fase inicial ou lag, a velocidade específica do crescimento inicia em um valor próximo de zero, depois aumenta gradativamente até se aproximar novamente de zero, quando um valor assintótico no crescimento microbiano é alcançado. Na representação através de uma curva de crescimento, onde o logaritmo da contagem microbiana está em função do tempo, as variações da velocidade resultam em uma curva sigmoidal (ZWIETERING et al., 1990).

Os parâmetros utilizados neste modelo são: a fase de latência ou lag ( $\lambda$ ), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu$ ), a concentração inicial ( $N_0$ ) e a população máxima atingida ( $N_{m\acute{a}x}$ ). A Figura 2 representa a curva de crescimento microbiano sob condições ambientais constantes.

Figura 2: Curva de crescimento microbiano sob condições ambientais constantes.



Fonte: DA SILVA, N. B., 2015.

Esses modelos de crescimento descrevem a evolução da população através de uma equação diferencial de primeira ordem (BERNAERTS et al., 2004), segundo a Equação 1.

$$\frac{dN}{dt} = \mu(t, N, \text{cond})N(t) \quad (1)$$

em que:  $N(t)$  representa a contagem da população no instante  $t$ ,  $\mu(t)$  é a velocidade específica de crescimento da população, esta depende das condições ambientais (*cond*) a que a população é submetida, como também fatores intrínsecos à própria população (LONGHI, 2012).

Dentre os modelos primários de crescimento, os mais utilizados na literatura são: modelo de Baranyi e Roberts (BARANYI & ROBERTS, 1994), o modelo de Gompertz (ERKMEN, 2000) e Gompertz modificado (ZWIETERING et al., 1991), modelo Logístico (ERKMEN, 2000; GIBSON et al., 1987), modelo Logístico modificado (CORRADINI e PELEG, 2005), modelo linear de três fases, conhecido também como modelo de Buchanan (BUCHANAN et al., 1997) e o modelo de Huang (HUANG, 2008).

#### 2.4.1.1 Modelo de crescimento de Baranyi e Roberts

Um dos modelos mais utilizados na microbiologia preditiva é o de Baranyi e Roberts, devido a alguns fatores: (i) sua facilidade de uso por ter *softwares* disponíveis em que as equações já estão inseridas, (ii) é aplicável em condições ambientais dinâmicas, (iii) tem uma boa capacidade de ajuste, e (iv) a maior parte dos parâmetros do modelo são biologicamente interpretáveis (VAN IMPE et al., 2005; LERBET e LEBERT, 2006).

Este modelo deduz que, após um certo tempo, a taxa de crescimento se torna constante, mostrando que a fase exponencial do crescimento pode ser representada como uma reta, descrevendo uma fase linear de crescimento (GIBSON et al., 1994).

O modelo de crescimento de Baranyi e Roberts, demonstrado na Equação 2, tem como objetivo entender as causas da fase de latência e emprega novos conceitos, como o estado fisiológico das células (MARTINS, 2015). Os parâmetros deste modelo são: a fase de latência ( $\lambda$ ), a velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu$ ), concentração das células inicial ( $N_0$ ), no tempo  $t$  ( $N$ ) e concentração máxima ( $N_{m\acute{a}x}$ ,  $Y_{m\acute{a}x}$ )  $m$  é o parâmetro de curvatura do modelo e  $F(t)$  é representado pela Equação 3.

$$\ln N = \ln(N_0) + \mu \cdot F(t) - \frac{1}{m} \ln\left(1 + \frac{\exp(m \cdot \mu \cdot F(t)) - 1}{\exp(m(N_{m\acute{a}x} - N_0))}\right) \quad (2)$$

$$F(t) = t + \frac{1}{\mu} \ln(e^{(-\mu \cdot t)} + e^{(-h_0)} - e^{[-\mu \cdot t] - h_0}) \quad (3)$$

em que  $h_0$  é considerado o estado fisiológico das células e é dado pela Equação 4:

$$h_0 = \mu \cdot \Lambda \quad (4)$$

Para descrever o mecanismo biológico utiliza-se a função de ajuste deste modelo, com isso, demonstra a evolução do estado fisiológico das células do microrganismo ao novo ambiente através da seguinte Equação 5.

$$\frac{dN}{dt} = \left[\frac{Q(t)}{(1 + Q(t))}\right] \cdot \mu_{m\acute{a}x} \cdot \left[\frac{1 - N(t)}{N_{m\acute{a}x}}\right] \cdot N(t) \quad (5)$$



### 2.4.2 Modelos secundários

Os modelos secundários descrevem a dependência dos parâmetros obtidos com os modelos primários em relação a fatores como a temperatura, atividade da água, pH, concentração de sal, entre outros (CORRADINI e PELEG, 2005). Pode ser citado como exemplo de modelo secundário o modelo de Ratkowsky et al., (1982) (Equação 6) que descreve a relação entre a velocidade específica máxima de crescimento microbiano e temperaturas abaixo do ideal (RATKOWSKY et al., 1982, SMITH, 1985, BUCHANAN E KLAUITTER, 1992).

$$\sqrt{k} = b(T - T_{min}) \quad (6)$$

em que:  $k$  é o parâmetro de interesse ( $\lambda$ ,  $\mu$  e  $y_{m\acute{a}x}$ ),  $T$  é a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e  $T_{min}$  a temperatura mínima teórica para o crescimento ( $^{\circ}\text{C}$ ) e  $b$  é um parâmetro do modelo.

Outros modelos secundários podem ser utilizados para avaliar a variação dos parâmetros dos modelos primários com a temperatura e outros fatores como atividade de água, pH, concentração de sal, etc (CORRADINI et al., 2006; MENEZES, 2016), como por exemplo, o modelo exponencial (Equação 7), e o modelo de Arrhenius (Equação 8).

$$k = a \cdot \exp(bT) \quad (7)$$

$$\ln k = a\left(\frac{1}{T}\right) + b \quad (8)$$

em que:  $k$  é o parâmetro de interesse ( $\lambda$ ,  $\mu$  e  $y_{m\acute{a}x}$ ),  $T$  é a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e  $a$  e  $b$  os parâmetros do modelo.

### 2.4.3 Modelos não isotérmicos

Com a utilização de modelos preditivos, pode-se determinar a vida útil de produtos submetidos a flutuações de temperatura (NAKASHIMA et al., 2000). Como os modelos primários descrevem somente condições ambientais constantes, é necessário o uso de outras abordagens para prever o crescimento microbiano em condições não isotérmicas (LONGHI, 2012), por exemplo, o uso da forma diferencial do modelo primário em conjunto com um modelo secundário (DALCANTON, 2010; CORRADINI e PELEG, 2005).

Um dos modelos mais utilizados na literatura é o modelo de Baranyi e Roberts (1994), na forma diferencial, sendo ele utilizado na predição do crescimento microbiano em condições não isotérmicas (seção 4.6.3).

Silva (2015) utilizou um modelo não isotérmico para prever o crescimento de cultura pura de *W. viridescens* em presunto fatiado embalado a vácuo, Martins (2015) estudou o crescimento de *W. viridescens* em meio de cultivo sob condições não isotérmicas e Menezes (2016) avaliou o efeito da adição de óleo essencial de orégano na vida útil de presunto fatiado embalado a vácuo sob condições isotérmicas e não isotérmicas.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA SALSICHA

Com o objetivo de caracterizar a salsicha utilizada na pesquisa, foram realizadas as análises de pH, atividade água e concentração cloretos. As análises foram realizadas em triplicada, onde foi retirado uma amostra de cada extremidade e outra do meio da salsicha.

A realização da análise de atividade de água foi realizada no equipamento Aqualab (modelo séries 3TE, Decagon Devices, Inc. Pullman, EUA) determinada em higrômetro digital. Após a calibração do aparelho, colocou-se uma massa de aproximadamente 2 g de salsicha previamente triturada com a utilização de um garfo.

O pH foi medido em cada extremidade e no centro da amostra, com a utilização de um pHmetro para sólidos (TESTO, modelo 205), previamente calibrado.

Foi realizada a análise total de cloretos para posterior conversão em concentração de cloreto de sódio (NaCl). Para a realização desta conversão, foi seguida a metodologia proposta por Aliño et al. (2011).

Para medir a concentração de cloretos, foi pesado 4 g de cada amostra e posteriormente triturados com o auxílio do Dispensor (TECNAL, modelo TE-147) junto com aproximadamente 100 mL de água destilada. Após passar por esse processo, o conteúdo foi transferido para um balão volumétrico de 200 mL e completado com água destilada. Em seguida, esta solução foi centrifugada por 10 min a 9.000 rpm. Após calibrar o equipamento (Cole Parmer, modelo 926) utilizado para a análise automática de cloretos, 0,5 mL do sobrenadante foi analisado e os resultados obtidos foram expressos em miligramas de Cl por litro de solução. A partir deste resultado encontrado, foi calculada a concentração de NaCl na amostra, segundo a Equação (9).

$$x_{NaCl} = \left(\frac{L.V}{m}\right)\left(\frac{M_{NaCl}}{M_{Cl}}\right)100 \quad (9)$$

em que  $x_{NaCl}$  representa a concentração de cloreto de sódio (g NaCl/100g salsicha),  $L$  é a leitura fornecida pelo equipamento (em g Cl/L de solução),  $V$  é o volume (em litro) da solução (amostra + água destilada),  $m$  é a massa da amostra (em g),  $M_{NaCl}$  é a massa molar do cloreto de sódio (58,44 g/mol) e  $M_{Cl}$  é a massa molar do cloreto (35,45 g/mol).

### 3.2 MICRORGANISMO

A bactéria ácido láctica estudada foi a *W. viridescens* (CCT 5843, ATCC 12706), adquirida na Fundação Tropical de Cultura André Tosello (Campinas, Brasil) e estocada no laboratório de Engenharia Bioquímica (ENGE BIO) do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

A cepa utilizada foi reidratada, conforme indicação, e cultivada em meio de cultivo Man, Rogosa e Sharpe (MRS) e estocada em micro tubos de polipropileno com meio MRS (Acumedia Fabrica, Inc. Lansing, Michigan, EUA) contendo 20% de glicerol a -24°C, até a sua utilização (MARTINS, 2015).

### 3.3 EQUIPAMENTO DE RADIAÇÃO UV-C

O equipamento de radiação UV-C utilizado para irradiar a salsicha embalada a vácuo, possui lâmpadas fluorescentes de mercúrio dispostas conforme a Figura 3. Este aparato é encamisado e possui um sistema de refrigeração através da circulação da solução de etilenoglicol, com a finalidade de manter a temperatura mais baixa do que a ambiente, fazendo com que o microrganismo seja afetado somente pela radiação UV-C, e não pela temperatura.

O equipamento deve ser ligado 30 minutos antes do experimento, para aquecer as lâmpadas e alcançar uma temperatura estável. As amostras já embaladas, foram colocadas no centro do equipamento, de forma a receber radiação uniformemente e a uma distância de aproximadamente 30 cm das lâmpadas.

Figura 3: Equipamento de radiação.



Fonte: BRAGA, 2018.

Legenda: 1) Indicador de temperatura (Digimec – BTC 9090); 2) Temporizador eletrônico digital microprocessado (TT-34); 3) Caixa de disjuntores; 4) Termopar tipo j (Salcas); 5) Válvula de duas vias (Hoke); 6) Banho termostático (microquímica); 7) Lâmpada fluorescente Germicida UV-C (Osram – 24W, 2G11); 8) Cooler (Intel).

Os itens 1 e 4 da Figura 3 servem para monitorar a temperatura dentro da câmara; item 3, fonte de energia para as lâmpadas e demais dispositivos de medida e controle no equipamento; item 2, temporizador cíclico utilizado para emitir luz pulsada com intervalo de até 0,1 s (entre ON-OFF); item 5, válvula de duas vias utilizada para coleta de gases caso fosse necessário; item 6, banho termostático utilizado para controlar a temperatura no interior da câmara; item 7, lâmpadas germicidas com espectro de 254 nm; Item 8, *cooler* utilizado para circulação dos gases do interior da caixa até o ponto de coleta (item 5).

### 3.4 PREPARO DO PRÉ INÓCULO

Para a preparação do pré inóculo, a cepa estocada em micro tubos de polipropileno em meio MRS contendo 20% de glicerol a -24 °C foi descongelada e inoculada em 160 mL de meio de cultivo MRS em um Erlenmeyer de 250 mL. Em estufa BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio), o pré inóculo permaneceu por 18 horas a 30 °C, tempo de incubação necessário

para que a bactéria atinja a fase estacionária e apresente uma concentração de  $10^9$  UFC/mL (CAMARGO, 2015).

### 3.5 PREPARO DAS AMOSTRAS PARA O EXPERIMENTO DE CRESCIMENTO

Inicialmente, foi observado se a bactéria se encontrava na fase estacionária, com uma concentração de  $10^9$  UFC/mL que corresponde a uma absorbância maior ou igual a 0,380 (CAMARGO, 2015). Para isso, com a ajuda do espectrofotômetro, leu-se a absorbância do pré inóculo através da diluição de 0,2 mL de pré inóculo em 1,8 mL de água, com um comprimento de onda de 600 nm. Posteriormente, foi diluído 1 mL de pré inóculo em 9,0 mL de água peptonada e feitas diluições seriadas até a concentração  $10^5$  UFC/mL de inóculo, com o objetivo de inocular  $10^2$  células/g de produto para simular uma concentração inicial próxima da realidade e melhor analisar a estabilidade do alimento (BATTISTELLA, 2008; FDA, 2001).

Em uma câmara de fluxo, um lote de 60 salsichas, da marca Perdigão (tipo *Hot dog*, pacote de 3,5 kg a vácuo), foi lavado com água destilada estéril e álcool 70%. Após o alimento secar, ele foi distribuído em uma bandeja (Figura 4) e, em cada amostra, foi inoculado 0,05 mL da suspensão de bactéria com uma concentração de  $10^5$  UFC/mL de inóculo, resultando numa concentração inicial de aproximadamente  $10^2$  UFC/g de salsicha.

Figura 4: Inoculação da bactéria *W. viridescens* na salsicha.



Fonte: Autor 2017.

Na parte superior, onde inoculou-se a *W. viridescens*, foi feito uma marca com caneta para identificar a face que tem que estar para cima a fim de receber a radiação UV-C.

Após secar o inóculo, aproximadamente 15 minutos, cada amostra foi acondicionada em uma embalagem plástica constituída de polietileno/poliamida (PA/PE), previamente higienizada com álcool 70%, e foi selada a vácuo (Selovac, modelo 200b). Metade das amostras foram submetidas a 5 segundos de radiação UV-C, que corresponde a  $1,93 \text{ W/m}^2$  (BRAGA, 2018). A embalagem utilizada e o tempo de aplicação da radiação foram estabelecidos em estudos prévios realizados por Braga (2018), este procedimento foi realizado para verificar a possibilidade da aplicação de radiação UV-C no alimento já embalado. Em seguida, todas as amostras foram armazenadas em estufa incubadora (BOD) com temperatura de aproximadamente  $8^\circ\text{C}$  como nos trabalhos de Battistella (2008) e Silva (2015), porém com variações de temperatura durante o tempo, simulando a realidade, até atingir a fase estacionária. Foram distribuídos quatro *dataloggers* (Testo 174, Lenzkirch, Alemanha), previamente calibrados (com resolução de  $0,1^\circ\text{C}$  a cada cinco minutos), para monitorar a temperatura em diferentes pontos da estufa incubadora, conforme visto na Figura 5.

Figura 5: Disposição das salsichas e dos *dataloggers* na BOD.



Fonte: Autor 2017.

No primeiro dia do experimento, foi retirado o primeiro par de salsichas (tempo zero), uma que sofreu ação da radiação UV-C e outra que não passou pelo tratamento (controle), como mostra a Figura 6. Após aproximadamente 48 horas, foi retirado o segundo par, e assim

sucessivamente, obtendo assim os pontos da curva de crescimento de vida útil da salsicha, em diferentes intervalos de tempo.

Figura 6: Salsicha embalada a vácuo com e sem (controle) tratamento de radiação UV-C na intensidade  $1,93 \text{ W/m}^2$ .



Fonte: Autor 2017.

Para obtenção dos dados experimentais para estabelecimento da curva de crescimento, colocou-se 10 mL de água peptonada na embalagem com a salsicha (correspondendo à primeira diluição) que foi retirada da BOD, e massageou-se o alimento por aproximadamente 20 segundos, até que as células bacterianas fossem desprendidas da superfície da salsicha. Na sequência, foi coletado 1 mL dessa solução bacteriana e, de acordo com a necessidade de cada experimento, diluições sucessivas foram realizadas em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada. Os tubos de ensaio foram agitados em agitador de tubos tipo Vortex (Marca BIOMIXER, Modelo VTX-F), e posteriormente, 1 mL das diluições de interesse foi transferido para a placa de Petri.

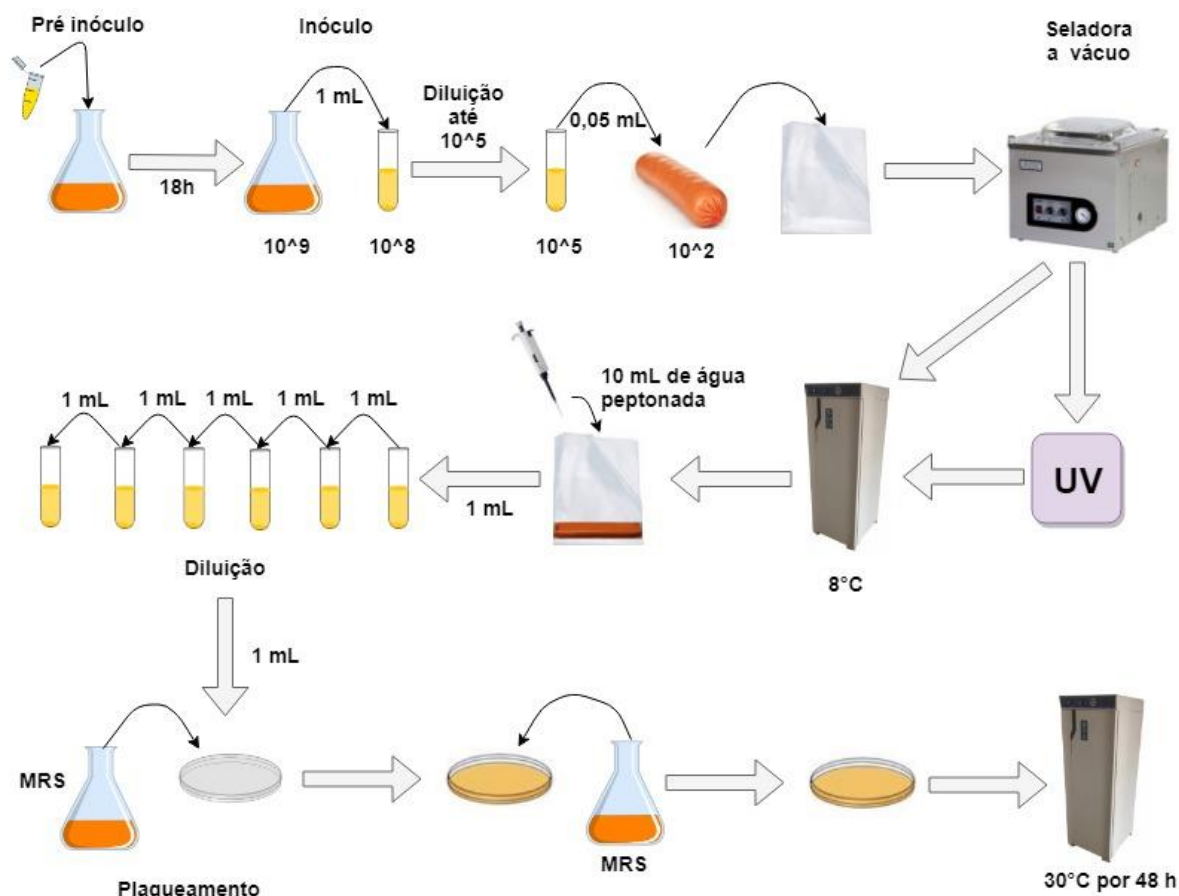
No plaqueamento, foram utilizadas placas de Petri estéreis e descartáveis com ágar MRS e 1 mL da diluição correspondente. Após homogeneizar com cuidado e solidificar, adicionou-se mais uma camada de MRS, para garantir a microaerofilia adequada para a BAL. Para cada diluição, houve plaqueamento em duplicata. As placas foram incubadas em BOD a  $30^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

As diluições foram realizadas de modo que a contagem de colônias desenvolvidas fosse em números de 25 a 250, e o resultado foi expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por mL de amostra.



Este processo foi realizado para cada um dos dois experimentos realizados. A Figura 7 mostra o esquema ilustrativo do processo experimental realizado neste estudo.

Figura 7: Fluxograma ilustrativo do processo experimental para o crescimento de *W. viridescens* em salsichas embaladas a vácuo.



Fonte: Autor 2018.

### 3.6 MODELAGEM MATEMÁTICA

#### 3.6.1 Modelo primário

De acordo com uma pesquisa realizada anteriormente por Martins (2015) no laboratório de engenharia bioquímica na UFSC, foi estudado o comportamento de *W. viridescens* em seis condições isotérmicas de cultivo, sendo elas as seguintes: temperatura ótima de crescimento ( $30^{\circ}\text{C}$ ), temperaturas abusivas ( $12$ ,  $16$  e  $20^{\circ}\text{C}$ ) e temperaturas de refrigeração ( $4$  e  $8^{\circ}\text{C}$ ). Através dos dados experimentais e do ajuste do modelo primário de Barany e Roberts (Equações 2, 3 e 4), foram obtidos os parâmetros para cada temperatura testada (CAMARGO, 2015).

### 3.6.2 Modelos secundários

Com o ajuste do modelo primário, foi obtido o parâmetro velocidade específica máxima de crescimento  $\mu_{m\acute{a}x}$  ( $\text{h}^{-1}$ ). Para a escolha do modelo que melhor descreve a influência da variação da temperatura sobre o  $\mu_{m\acute{a}x}$ , foram comparadas quatro equações correspondentes aos modelos secundários obtidos por Camargo (2015); linear, raiz quadrada, equação tipo Arrhenius e exponencial. Os valores deste parâmetro foram obtidos em temperaturas isotérmicas de 4, 8, 12, 16, 20 e 30°C. Com o Microsoft Office Excel® (2010), o ajuste do modelo secundário selecionado e os resíduos do ajuste foram obtidos (MARTINS, 2015).

Martins (2015) utilizou as médias para o parâmetro da população máxima atingida  $Y_{m\acute{a}x}$  [ln (UFC/mL)] como modelo secundário. Ajustou os modelos secundários linear, raiz quadrada, equação tipo Arrhenius e exponencial através dos dados experimentais de velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) de *W. viridescens* no intervalo de temperatura de 4 a 30 °C. Posteriormente, comparou os coeficientes de correlação ( $R^2$ ) para a escolha do modelo e escolheu a modelo raiz quadrada pois representou bem a dependência de  $\mu_{m\acute{a}x}$  com a temperatura, apresentando valor de  $R^2$  acima de 0,99, como mostra a Tabela 2. Por essa razão, esse modelo foi selecionado para representar a influência da temperatura sobre a velocidade máxima específica de crescimento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ).

Tabela 2: Modelo secundário escolhido para descrever a interferência da temperatura sobre o parâmetro velocidade específica máxima de crescimento de *W. viridescens*.

Modelo	Equação	$R^2$
<b>Raiz quadrada</b>	$\sqrt{\mu_{m\acute{a}x}} = 0,029 \cdot (T + 1,32)$	0,9930

Fonte: MARTINS, 2015.

### 3.6.3 Predição do crescimento de *W. viridescens*

O modelo utilizado por Martins (2015) para predizer o crescimento de *W. viridescens* nas condições não isotérmicas avaliadas, com as condições iniciais (Equação 13 e 14) respectivamente, foi o de Baranyi e Roberts (1994) na forma diferencial (Equações 11 e 12). E na Equação 15 mostra a relação entre  $Q_0$  e o parâmetro  $h_0$ .

$$\frac{dy(t)}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \left[ \frac{1}{1+e^{-Q(t)}} \right] \{1 - \exp[y(t) - y_{m\acute{a}x}]\} \quad (11)$$

$$\frac{dQ(t)}{dt} = \mu_{m\acute{a}x} \quad (12)$$

$$Q(0) = Q_0 \quad (13)$$

$$y(0) = y_0 \quad (14)$$

$$Q_0 = -\ln[\exp(h_0) - 1] \quad (15)$$

em que  $y(t)$  é o logaritmo natural da contagem microbiana no tempo  $t$  ( $y(t) = \ln(N(t))$ );  $Q(t)$  é a função do estado fisiológico das células, ou seja,  $Q(t) = \ln(q(t))$ ;  $\mu_{m\acute{a}x}$  e  $Y_{m\acute{a}x}$  são funções da temperatura ( $Y_{m\acute{a}x} = Y_{m\acute{e}dio}$ ), descritos pelo modelo secundário;  $y_0$  é o valor do logaritmo natural da contagem bacteriana inicial ( $y(0) = \ln[N_0]$ ), e  $Q_0$  é o valor do estado fisiológico inicial das células.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA SALSICHA

A média dos resultados das análises de caracterização das salsichas utilizadas nos dois experimentos (experimento 1 e 2), realizados em triplicata, encontra-se na Tabela 3.

Tabela 3: Médias e desvios padrão das análises realizadas na salsicha.

Experimentos	pH	Atividade de água	NaCl (% de massa)
<b>Experimento 1</b>	6,415 ( $\pm$ 0,034)	0,964 ( $\pm$ 0,000)	2,735 ( $\pm$ 0,019)
<b>Experimento 2</b>	6,406 ( $\pm$ 0,037)	0,964 ( $\pm$ 0,000)	2,702 ( $\pm$ 0,003)

Fonte: Autor 2018.

Segundo Hoffmann (2001), produtos cárneos possuem a atividade de água em torno de 0,98. Ferraccioli (2012) produziu 3 tipos de salsicha a partir de uma formulação padrão praticada pelo mercado de salsicha *hot dog*, variando somente a concentração de nitrito de sódio, nitrato de sódio e eritorbato de sódio, e com isso, chegou no resultado em que a atividade de água varia entre 0,969 e  $0,970 \pm 0,01$ . O valor de atividade de água para a salsicha encontrado no presente trabalho (0,964), encontra-se próximo dos valores citados na literatura.

De acordo com Ferraccioli (2012), a partir de 15 amostras, o pH das salsichas do tipo *hot dog* variou entre 5,67 e 6,80, enquanto Rossi (2014) encontrou valores de pH de salsichas que variaram de 6,3 a 6,1, apresentando-se dentro das normalidades para produtos cárneos embutidos de massa fina. Zdanski (2011) encontrou um pH de 6,3 na amostra controle do mesmo produto. Observa-se que os resultados obtidos nesses experimentos, 6,415 e 6,406, estão dentro dos valores encontrados na literatura. Em salsichas, esse aumento do pH deve-se, principalmente, à adição de aditivos como os antioxidantes e estabilizantes utilizados durante o processamento do produto (ROSSI, 2014).

De acordo com Gava (1984), as BAL têm a capacidade de se desenvolver em alimentos com pH próximo da neutralidade e atividade de água maior que 0,90, sabendo que as bactérias produtoras de ácido, como por exemplo a BAL, desenvolvem-se em meio levemente ácido.

Percentuais variando entre 2,08 a 3,20% de cloreto de sódio foram encontrados em pesquisa realizada por Bolzan e Silva (2012), enquanto Angelini (2011) encontrou resultados

entre 2,16% a 3,05% em sete marcas comerciais de salsichas brasileiras. Conforme a Tabela 3, os níveis de cloreto de sódio foram 2,735 e 2,702, valores esperados de acordo com a bibliografia citada anteriormente. Segundo Salgado et al (1999), devido ao sabor, a concentração de sal máxima recomendada para embutidos é de 3%.

Com base nos resultados obtidos e de acordo com as análises realizadas, pode-se afirmar que as amostras de salsicha selecionadas para os experimentos apresentam características que são esperadas para esse alimento e que o produto fornece condições para o desenvolvimento de BAL.

#### 4.2 CRESCIMENTO DE *W. viridescens* EM SALSICHA EMBALADA A VÁCUO COM E SEM TRATAMENTO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.

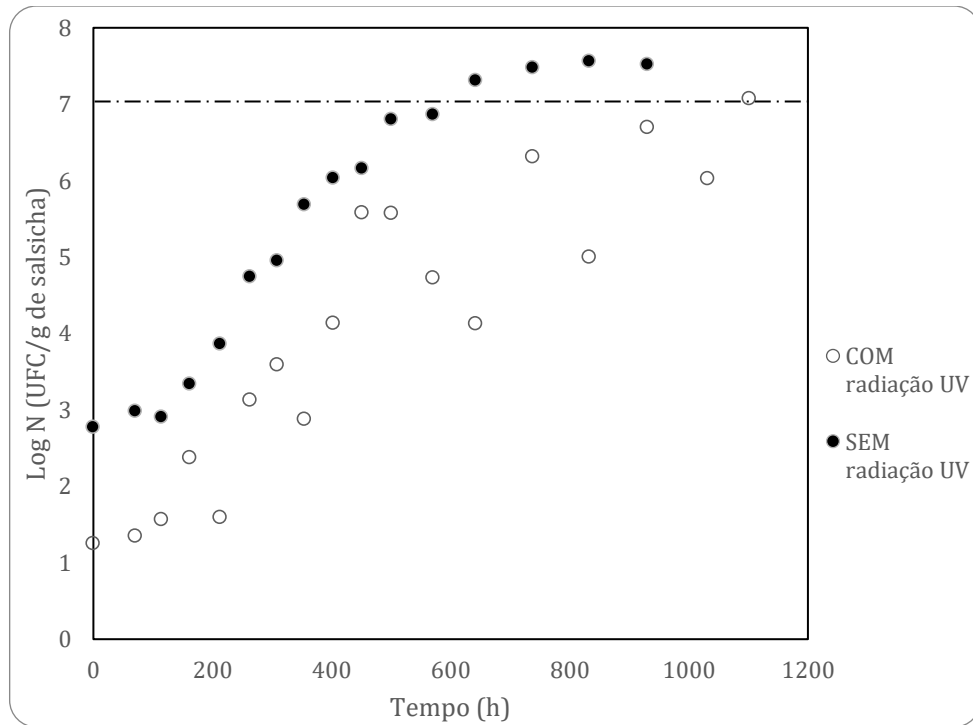
Neste tópico estão apresentados os resultados do crescimento de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo com e sem a aplicação de radiação UV-C.

A embalagem plástica utilizada é constituída de polietileno/poliamida (PA/PE). Essa embalagem foi escolhida diante dos bons resultados do estudo de inativação de microrganismos deteriorantes em abacaxi embalado realizado por Manzocco et al. (2016), além de ser indicada pelo fabricante para embalar produtos cárneos.

De acordo com o FDA (2001), com o objetivo de estudar a estabilidade de alimentos (*Microbiological Challenge Testing*), é preciso inocular entre  $10^2$  e  $10^3$  células/g de produto. Battistella (2008), ao estudar a vida útil das salsichas, encontrou esta concentração inicial. A partir desses valores encontrados na literatura e com o intuito de simular a realidade, os experimentos de vida útil foram iniciados com a concentração entre  $10^2$  e  $10^3$  células/g de salsicha. Assim, não sendo necessárias reduções maiores que estas concentrações, Braga (2018) considerou o tempo de 5 segundos como suficiente para a inativação em seu estudo. Além disso, Manzocco et al. (2016) constataram efeito da radiação no tempo final da vida útil do produto analisado, mesmo não encontrando nenhuma redução. Desta forma o tempo de 5 segundos de inativação foi escolhido para o presente trabalho, baseados em estudos pré determinados por Braga (2018).

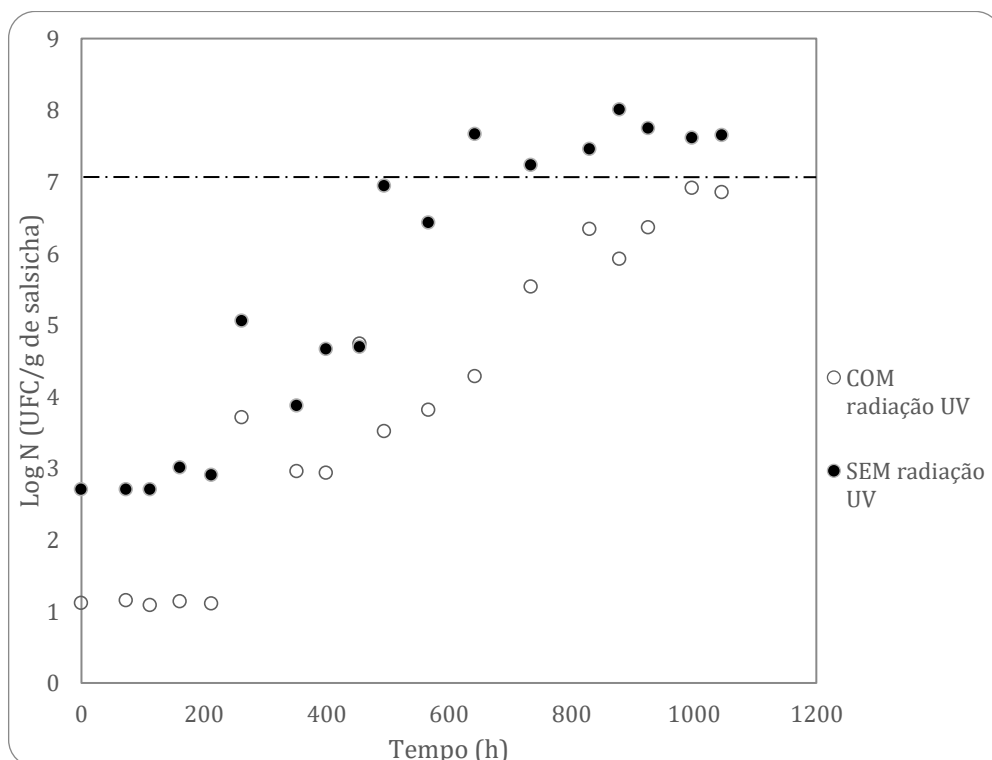
As curvas de crescimento de *W. viridescens* com e sem tratamento de radiação UV-C, obtidas nos dois experimentos, encontram-se nas Figuras 8 e 9.

Figura 8: Crescimento da bactéria *W. viridescens* em salsichas embaladas a vácuo com e sem radiação UV-C na intensidade de  $1,93 \text{ W/m}^2$  - experimento 1.



Fonte: Autor 2018

Figura 9: Crescimento da bactéria *W. viridescens* em salsichas embaladas a vácuo com e sem radiação UV-C na intensidade de  $1,93 \text{ W/m}^2$  - experimento 2.



Fonte: Autor 2018.

Nota-se que com a aplicação de radiação UV-C, diminui a concentração inicial em aproximadamente dois logs, fazendo com que a curva com esse tratamento atinja níveis menores de concentração comparado com a curva sem radiação UV-C.

Segundo Slongo et al. (2009), e Irkin et al. (2011), em produtos em que as BAL são as principais deteriorantes, o final da vida útil é quando se atinge uma concentração de  $10^7$  UFC/mL. Sabendo disso, houve inativação de alguns microrganismos na salsicha que passou pelo tratamento UV-C, como esperado, a concentração inicial deve ser mais baixa, levando mais tempo para atingir a concentração de  $10^7$  UFC/ml. Por essa razão, o uso da radiação UV-C possibilitou que as amostras levassem mais tempo para atingir a concentração de  $10^7$  UFC/g de alimento (fator que define a vida útil), aumentando assim, a vida útil da salsicha, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados do tempo de vida útil.

	<b>Tempo para atingir a concentração de <math>10^7</math> UFC/ml (dias)</b>	<b>Aumento da vida útil (dias)</b>
<b>Sem UV 1</b>	$\pm 23$	-
<b>Com UV 1</b>	$\pm 45$	$\pm 22$
<b>Sem UV 2</b>	$\pm 25$	-
<b>Com UV 2</b>	mais de 44 dias	mais de 19 dias

Fonte: Autor 2018.

Observou-se, também, que no segundo experimento as bactérias que estão presentes na salsicha que passou pela radiação não atingiram a concentração de  $10^7$  UFC/ml, pois com 44 dias as amostras acabaram e não alcançaram 6/7 logs decimais, não sendo possível a continuação do experimento. Por essa razão, o fim da vida útil pode ser baseado em outros parâmetros, como alteração da aparência do alimento, alteração no odor, sabor, entre outros. Alguns desses parâmetros puderam ser observados no fim da vida útil das amostras, como por exemplo, presença de mela, odor característico da salsicha mais intensificado e no segundo experimento pôde ser observado a presença de gás nas embalagens. Esses resultados eram esperados pois a *W. viridescens* é um dos principais deteriorantes de produtos cárneos embalados a vácuo, desencadeando perda de vácuo, presença de limo, odores e sabores desagradáveis, inchaço dos pacotes, descoloração e uma diminuição no pH (BJÖRKROTH; HOLZAPFEL, 2006; COMI; IACUMIN, 2012; SAMELIS et al., 2000a, b).

Segundo Battistella (2008), os resultados obtidos para a vida útil da salsicha armazenada a 6,5 °C foi de 21 dias, onde a concentração média inicial e final das BAL foi de 2,06 log UFC/g e 7,87 log UFC/g de salsicha, respectivamente. Como foi descrito na Tabela 4, os resultados desta pesquisa mostraram que a vida útil da salsicha sem radiação foi de aproximadamente 23 e 25 dias, com uma concentração inicial entre 2,5 e 3 log UFC/g de salsicha. Um fator que pode ter influenciado esse tempo de vida útil mais longo comparado com a literatura citada, é o fato de que a salsicha utilizada nesta pesquisa ter passado por tratamento térmico já embaladas pelo fabricante, como também, ter sido lavada com água destilada estéril e álcool 70% antes do inóculo para a realização do experimento.

No estudo de Noskowa (1978), algumas cepas isoladas de produtos cárneos foram inativadas a uma temperatura de 60°C em diferentes tempos, variando entre 1 e 28 minutos, porém alguns microrganismos, dentre eles a *W. viridescens*, não foram destruídos quando submetidos a uma temperatura de 80°C por 5 minutos, a 75°C em 10 minutos, a 70°C em 15 minutos, a 65°C em 30 minutos, a 60°C em 60 minutos, a 55°C em 120 minutos e a 50°C em 175 minutos. Battistella (2008) encontrou um resultado semelhante, algumas cepas de *Lactobacillus* suportam temperatura de 65°C por aproximadamente 120 minutos. Com isso, a partir dos resultados desta pesquisa, o uso da radiação é uma alternativa eficaz ao tratamento térmico de salsichas embaladas a vácuo.

Analizando os resultados obtidos neste tópico, pode-se observar que com a aplicação de radiação a vida útil da salsicha embalada a vácuo teve um aumento de aproximadamente 22 dias, o que representa um aumento de 95%, obtendo um resultado satisfatório para salsichas embaladas a vácuo com a aplicação de apenas 5 segundos de uma intensidade de 1,93 W/m<sup>2</sup>.

#### 4.3 CRESCIMENTO DE *W. viridescens* EM CONDIÇÕES NÃO ISOTÉRMICAS

Nem sempre é possível garantir que na prática as condições operacionais, como a temperatura, vão ser constantes. Isso pode ser observado no presente trabalho, onde a temperatura variou ao decorrer do tempo, influenciando o crescimento microbiano. Por essa razão, foi feita a comparação com a predição proposta no modelo de Martins (2015), que estudou o crescimento de *W. viridescens* em meio de cultivo em diferentes temperaturas, podendo ser comparado com as condições reais de contaminação em produtos cárneos, não irradiados.

No estudo de Costa et al. (2016), foi relatado a cinética de crescimento de *W. viridescens* em meio de cultura, para perfis de variação de temperatura entre 6 e 10°C e entre 5

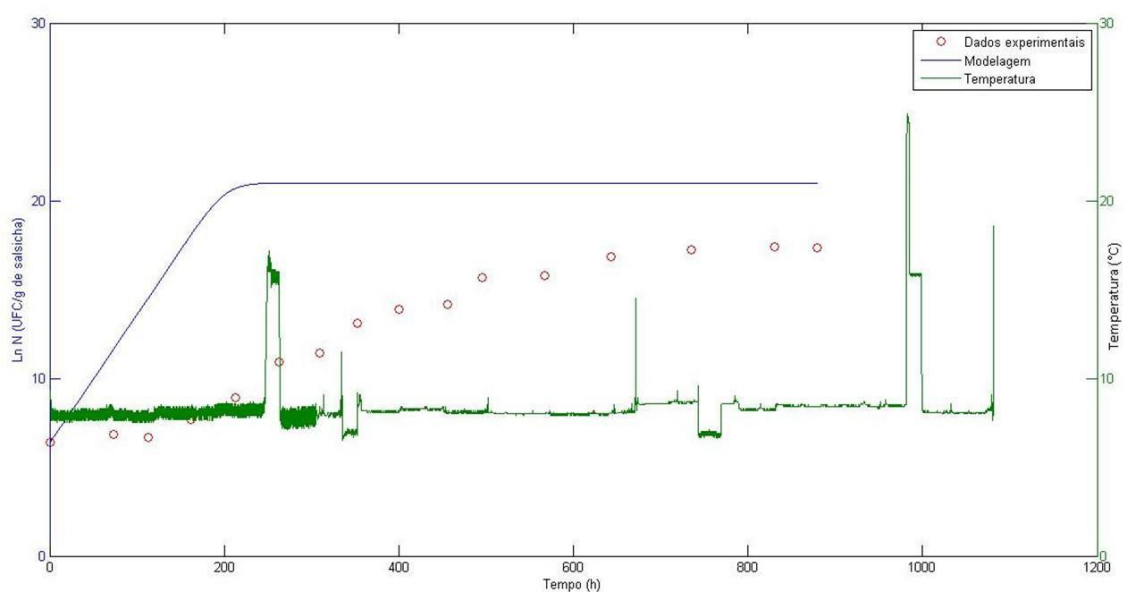


e 11°C. E os resultados dessa pesquisa mostraram que foi possível validar o modelo matemático com o uso dos dados experimentais, permitindo o conhecimento do crescimento microbiano em condições não isotérmicas.

Camargo (2015) modelou o crescimento de (*Lactobacillus plantarum*, *Weissella viridescens* e *Lactobacillus sakei*) em cultura pura e mista, sob condições isotérmicas e não isotérmicas em meio de cultivo (MRS) e Martins (2015) utilizou dados obtidos para *W. viridescens* para obter o modelo secundário e posteriormente o modelo preditivo não isotérmico. As Figuras 10, 11, 12 e 13 comparam a predição obtida no modelo descrito por Martins (2015) para o crescimento de *W. viridescens* com os dados experimentais obtidos neste trabalho, com a BAL submetida (Figuras 11 e 13) ou não à radiação UV-C (Figuras 10 e 12). Nas Figuras 10, 11, 12 e 13, estão representados os dados experimentais (círculos vermelhos) e a variação de temperatura (linha verde) obtidos e demonstrados neste trabalho, além da predição feita com os dados obtidos por Martins (2015) (curva azul).

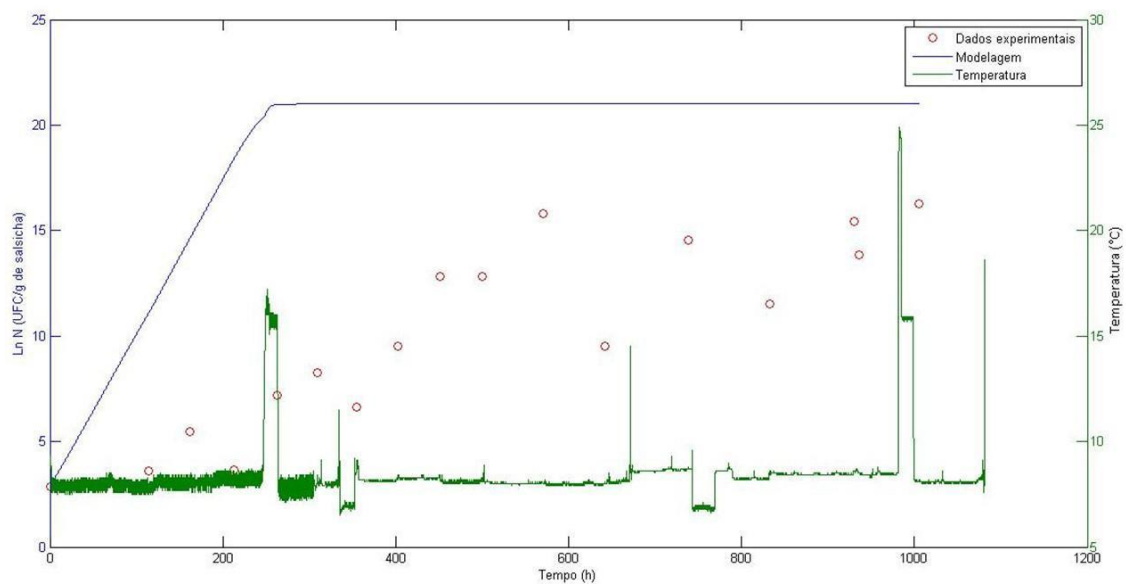
Através do modelo preditivo de Martins (2015), com o auxílio do *software* Matlab (*MathWorks*®, Natick, USA), utilizando o modelo de Baranyi e Roberts (1994) na forma diferencial (Equações 11 e 12), foi obtido a predição do crescimento não isotérmico de *W. viridescens*, controle e após irradiação.

Figura 10: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo não submetida à radiação UV-C (experimento 1).



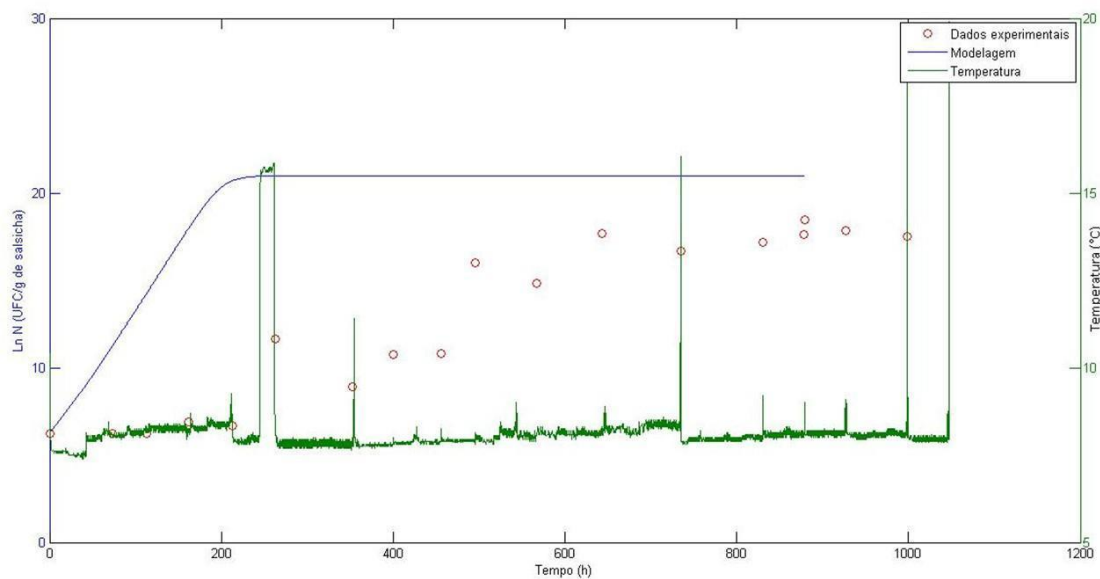
Fonte: Autor 2018.

Figura 11: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C na intensidade de  $1,93 \text{ W/m}^2$  por 5 segundos (experimento 1).



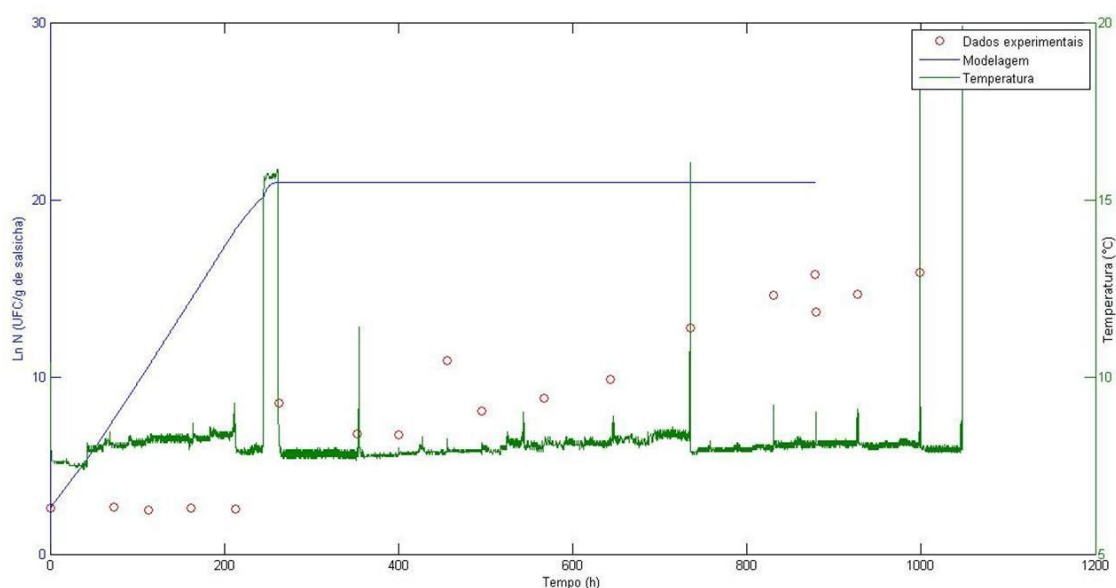
Fonte: Autor 2018.

Figura 12: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo não submetida à radiação UV-C (experimento 2).



Fonte: Autor 2018.

Figura 13: Crescimento sob refrigeração, com seu respectivo perfil de temperatura, de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo submetida à radiação UV-C na intensidade de  $1,93 \text{ W/m}^2$  por 5 segundos (experimento 2).



Fonte: Autor 2018.

Analisando as Figuras 10, 11, 12 e 13, podemos observar que o modelo previsto por Martins (2015) não previu bem o crescimento de *W. viridescens* em salsichas embaladas a vácuo com e sem a aplicação de radiação UV-C.

Segundo Costa et al. (2016), as mudanças abruptas na temperatura podem levar o microrganismo a apresentar fases lag intermediárias, o que pode ser visto no estudo de Zwietering et al. (1994) que tentou prever o crescimento de *L. plantarum* com mudanças bruscas de temperatura. Nessas fases intermediárias, os autores modificaram o modelo acrescentando termos empíricos para descrevê-las, aumentando a capacidade preditiva em 73% dos casos. Porém, quando a temperatura em que ocorre o experimento está próxima da temperatura mínima para o crescimento do microrganismo, as previsões com o modelo modificado não foram satisfatórias. Por essas razões, em condições de mudanças abruptas de temperatura próximas à temperatura mínima quando se quer construir um modelo matemático para prever um crescimento microbiano, ainda são um desafio para os pesquisadores.

Antwi et al. (2007) dizem que por ser mais complexa que o meio de cultivo, a matriz do alimento pode interferir no crescimento dos microrganismos, reduzindo a velocidade inicial de multiplicação dos mesmos, como por exemplo, aumentando o tempo de adaptação (fase lag).

Como os dados utilizados para fazer a predição do crescimento foram obtidos de resultados em meio de cultura, pode ser que tenha influenciado negativamente a predição de crescimento de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo.

Embora o modelo utilizado por Martins (2015) não possa ser usado para prever a vida útil da salsicha irradiada ou não, esse modelo já foi usado com sucesso para prever a vida útil de presunto em condições não isotérmicas (SILVA, 2015; MENEZES, 2016)

## 5 CONCLUSÃO

Este trabalho teve como principal objetivo determinar o efeito da radiação UV-C na vida útil de salsicha embalada a vácuo com a presença de *W. viridescens*, comparando o tempo de vida útil entre a salsicha que passou por tratamento de radiação ultravioleta e a que não passou, e posteriormente, comparar os resultados obtidos com a predição do modelo não isotérmico proposto por Martins (2015). A partir das análises realizadas conclui-se que:

- A aplicação de radiação UV-C mostra respostas satisfatórias, aumentando a vida útil da salsicha em aproximadamente 22 dias.
- As análises físico-químicas realizadas na salsicha mostram que as amostras utilizadas no experimento estão de acordo com a literatura, como também, caracterizam o produto como um meio ótimo para o crescimento de BAL.
- Na validação da predição de Martins (2015), observou-se que o modelo não previu bem o crescimento de *W. viridescens* em salsicha embalada a vácuo. Uma hipótese para esse resultado é que o modelo foi desenvolvido em meio de cultura, ou seja, nas condições ideais para o desenvolvimento do microrganismo. Com isso, a bactéria pode ter demorado para se adaptar às novas condições de nutrientes e oscilação de temperatura, causando a diferença entre os dados experimentais e a predição avaliada.

## 6 REFERÊNCIAS

- ALIÑO, M. et al. Development of a low-sodium ready-to-eat desalted cod. *Journal of Food Engineering*, v.107, p. 304-310, 2011.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. **UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits.** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, v. 10, p. 512-516, 2009.
- ANGELINI, Ana P.R. **Quantificação do colágeno, da composição centesimal e estudo do balanço de massa dos nutrientes declarados, na avaliação da qualidade de salsichas.** Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte, MG, 2011.
- ANTWI, M.; BERNAERTS, K.; VAN IMPE, J.F.; GEERAERD, A.H. **Modelling the combined effects of structured food model system and lactic acid on *Listeria innocua* and *Lactococcus lactis* growth in mono- and coculture.** *International Journal of Food Microbiology*, v.120, p.71–84, 2007.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **PORTARIA Nº 1.004, DE 11 DE DEZEMBRO DE 1998.** Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Portaria+n%C2%BA+1004%2C+de+11+de+dezembro+de+1998.pdf/41e1bc8f-b276-4022-9afb-ff0bb3c12c0c>>. Acesso em 23 de novembro de 2017.
- AUXTRAT. **Desinfecção e esterilização ultravioleta.** Disponível em <<http://www.auxtrat.com.br/ultravioleta/>> 2008. Acesso em 02 de novembro de 2017.
- AXELSSON, L. Acid lactic bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S., WRIGHT, A.V., OUWEHAND, A. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. 3 ed. New York: Marcel Dekker Inc, p. 1-66, 2004.
- BARANYI, J. ROBERTS, T.A. **A dynamic approach to predicting bacterial growth in food.** *International Journal of Food Microbiology*, v. 23, p. 277-294, 1994.
- BATTISTELLA, P. M. D. **Análise De Sobrevida Aplicada À Estimativa Da Vida De Prateleira De Salsicha.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.
- BRAGA, C. M. **Aplicação de radiação ultravioleta na inativação de microrganismos deteriorantes de alimentos.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.
- BRASIL. Instrução Normativa SDA - 4, de 31/03/2000. Disponível em <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-4-de-31-03-2000,662.html>> Acesso em 23 de novembro de 2017.
- BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União** de 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017.** Disponível em <[http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro\\_ged/pdf/2511\\_GED.pdf](http://www3.servicos.ms.gov.br/iagro_ged/pdf/2511_GED.pdf)> Acesso em 23 de novembro de 2017.

BJÖRKROTH, J.; HOLZAPFEL, W. **Genera Leuconostoc, Oenococcus and Weissella.** In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), **The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria.** Springer, New York, NY, USA, pp. 267–319, 2006.

BOLZAN, M. E.; SILVA, J. **Avaliação Dos Parâmetros Físico-químicos E Qualidade Microbiológica De Salsichas Acondicionadas Em Diferentes Embalagens.** Trabalho De Conclusão De Curso, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Francisco Beltrão, 2012.

BORCH, E.; KANT-MUERMANS, M. L.; BLIXT, Y. **Bacterial spoilage of meat and cured meat products.** Int. J. Food Microbiol. v.33, p.103-120, 1996.

BUCHANAN, R.L.; KLAUITTER, L.A. **The effect of incubation temperature, initial pH, and sodium chloride on the growth kinetics of Escherichia coli O157:H7.** Food Microbiol. 9, Relationship between temperature and growth rate of bacterial, p.185–196, 1992.

BUCHANAN, R. L., WHITING, R. C., DAMERT, W.C. When is simple good enough: A comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. Food Microbiology, v. 14, p. 313-326, 1997.

CARRASCO, E.; ROSAL, S. DEL; RACERO, J. C.; GARCÍA-GIMENO, R. M. **A review on growth/no growth Salmonella models.** Food Research International, v. 47, n. 1, p. 90–99, 2012.

CARVALHO, L. T. Maio/junho 2006. **Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Linha de Produção de Salsichas.** Revista Higiene Alimentar. 20 (141): 36-44.

CAYRÉ, M. E., VIGNOLO, G., GARRO, O., **Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsion stored at three temperatures.** Food Microbiology, v. 20, p.561-566, 2003.

CAYRÉ, M. E.; GARRO, O.; VIGNOLO, G. **Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and Brochothrix thermosphacta in cooked meat emulsions.** Food Microbiology, v. 22, p.505-512, 2005.

CAYRÉ, M.E.; VIGNOLO, G.; GARRO, O. **Selección de un Modelo Primario para Describir la Curva de Crecimiento de Bacterias Lácticas y Brochothrix thermosphacta sobre Emulsiones Cárnicas Cocidas.** Información tecnológica [online], v.18, p.23- 29, 2007.

CAMARGO, A. P. R. S. **Modelagem do crescimento de bactérias ácido lácticas em cultura pura e mista sob condições isotérmicas e não isotérmicas de cultivo.** 2015. 194 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

CHIN, A.; BERUBE, P. R. **Removal of disinfection byproduct precursors with ozone-UV advanced oxidation process.** Water Research, v. 39, p. 2136-2144, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.03.021>

CHUN, H.; KIM, J.; CHUNG, K.; WON, M.; SONG, K. B. **Inactivation kinetics of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteric* serovar *Thyphimurium*, and *Campylobacter jejuni* in ready-to-eat sliced ham using UV-C radiation,** Meat Science, 83, 599-603, 2009.

COLLINS, M.D., SAMELIS, J., METAXOPOULOS, J., WALLBANKS, S. **Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species.** J. Appl. Bacteriol. 75, 595–603, 1993.

COMI, G., IACUMIN, L., MANZANO, M., GIUSTO, C., OTTAVIANI, S., BOSCOLO, D., 2007. **Alterazione di prosciutto cotto da *Weissella viridescens*.** Ind. Aliment. 467, 267–273, 2007.

COMI G.; IACUMIN L. **Identification and process origin of bacteria responsible for cavities and volatile off flavour compounds in artisan cooked ham.** International Journal of Food Science & Technology, v.47, p.114-121, 2012.

CORRADINI, M. G.; PELEG, M. **Estimating non-isothermal bacterial growth in foods from isothermal experiments data.** Journal of Applied Microbiology, v. 99, p. 187-200, 2005.

CORRADINI, E.; DE MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. **Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol.** Journal of Applied Polymer Science, New York, v.101, n.6, p. 4133-4139, 2006.

COSTA, J. C. **Modelo Weibull com Parâmetros Dependentes de Covariáveis: Aplicação na Determinação de Vida de Prateleira.** Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Estatística. Dissertação de Mestrado. Belo Horizonte-MG, 2005.

COSTA, J. C. C. P.; TREMARIN, A.; LONGHI, D. A.; CARCIOFI, B. A. M.; LAURINDO, J. B.; ARAGÃO, G. M. F. **Predictive modeling of the growth of *Lactobacillus viridescens* under non-isothermal conditions.** Procedia Food Science 7 (2016) 29 – 32.

DALCANTON, F. **Modelagem matemática do crescimento de bactérias ácido lácticas em condições isotérmicas e não isotérmicas.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, p. 190, 2010.

DEVLIEGHERE, F.; DEBEVERE, J.; VAN IMPE, J. (a). **Effect of dissolved carbon dioxide and temperature on the growth of *Lactobacillus sake* in modified atmospheres.** International Journal Food Microbiology, v. 41, p.231-238, 1998.

DIEHL, J. F.; **Food irradiation Past, present and future.** Radiation Physics and Chemistry, v.63, p. 211-215, 2002.

ERKMEN, O. **Predictive modelling of *Listeria monocytogenes* inactivation under high pressure carbon dioxide.** Food Science and Technology, v. 33, p. 514-519, 2000.



EVANGELISTA, Z. R. **Radiação UV-C e cloreto de cálcio na qualidade pós-colheita da jabuticaba 'sabará'**, 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola - Engenharia de Sistemas Agroindustriais). Programa de pós-graduação *Stricto Sensu* em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis.

FARAG, H.; KORASHY N.T. **Lactic acid and pH as induction for bacteria spoilage of meat and some meat products**. J. Appl. Sci. Res. ed.2, v.8, p.522-528, 2006.

FDA (United States Food and Drug Administration). **Ultraviolet radiation for the processing and treatment of food**. Code of Federal Regulations, 179, 2011.

FELÍCIO, P. E. de. 1993. **Fatores ante e post mortem que influenciam na qualidade da carne vermelha**. Anais dos Simpósios da 30a. Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Rio de Janeiro-RJ, p.43-52.

FELLOWS, PJ. **Tecnologia do Processamento de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2ª ed., 2006.

FERRACCIOLI, V. R. **Avaliação da qualidade de salsichas do tipo hot dog durante o armazenamento**. Dissertação de mestrado apresentada à Escola de Engenharia Mauá do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul, 2012

FERREIRA, L. D. **Utilização da microbiologia preditiva na avaliação do crescimento de bactérias ácido lácticas em presunto fatiado**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

FLOROS, J. D.; MATSOS, K. I. **Introduction on modified atmosphere packaging**. In: HAN, J. H. Innovations in food packaging. 2005. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=MbVtx091tCUC&pg=PA103&dq=HAN,+J.+H.+Innovations+in+food+packaging.+2005&hl=ptBR&ei=wM\\_mTJTKHsWblgFD#v=snippet&q=10%25&f=false](https://books.google.com.br/books?id=MbVtx091tCUC&pg=PA103&dq=HAN,+J.+H.+Innovations+in+food+packaging.+2005&hl=ptBR&ei=wM_mTJTKHsWblgFD#v=snippet&q=10%25&f=false)>. Acesso em 23 de novembro de 2017.

FRANCO, B. D. G, DE MELLO; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**, Editora Atheneu São Paulo, 1996.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. 182 p.

FREITAS, M. A.; BORGES, W.; HO, L. L. A. 2001. **Statistical Model for Shelf Life Estimation Using Sensory Evaluation Scores**. Relatório Técnico RTP-10/2001. Universidade federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Estatística. Minas Gerais.

FU, B.; LABUZA, T. P. **Considerations for the Application of Time Temperature Integrators in Food Distribution**. Journal of Food Distribution Research, v. 23, p. 9-so18, 1992.

GAVA, A. J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. Ed. Nobel, 1ª ed., São Paulo, 1984.

GIBSON, A. M., BRATCHELL, N., ROBERTS, T. A. **The effect of sodium chloride and temperature on rate and extent of growth of *Clostridium botulinum* type A in pasteurized pork slurry.** Journal of Applied Bacteriology, v. 62, p. 479-490, 1987.

GIBSON, A. et al. **Predicting fungal growth: the effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species.** International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 23, n. 3-4, p. 419-431, Nov. 1994

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. **Review: Advantages and Limitations on Processing Foods by UV Light.** Food Science and Technology International, v. 10, n 3, p. 137-147, 2004.

HOFFMANN, F. L. **Fatores limitantes à proliferação de microrganismos em alimentos.** Brasil Alimentos, v.9, p.23-30, 2001.

HUANG, L. **Growth kinetics of *Listeria monocytogenes* in broth and beef frankfurters e determination of lag phase duration and exponential growth rate under isothermal conditions.** Journal Food Science, v. 73, p. 235-242, 2008.

HUANG, L. IPMP 2013 - **A comprehensive data analysis tool for predictive microbiology.** International Journal of Food Microbiology, v. 171, p. 100–107, 2014.

HUGAS, M. **Bacteriocinogenic lactic bacteria for the biopreservation of meat and meat products.** Meat Science, v.49, p. S 139- S150, 1998.

IRKIN R.; ESMER, O. K.; DEGIRMENCIOGLU, N.; DEGIRMENCIOGLU, A. **Influence of packaging conditions on some microbial properties of minced beef meat at 4 °C storage.** Bulgarian Journal of Agricultural Science, v.17, p.655-663, 2011.

JAY, J.M., 2000. **Processed meats.** In: Jay, J.M. (Ed.), **Modern Food Microbiology.** Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, pp. 87–99, 2000.

JAY, J. M. Modern Food Microbiology. 7. ed. New York: Springer, p. 39-790. 2005.  
KALAVROUZIOI, I.; HATZIKAMARI, M.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E. et al. **Production of hard cheese from caprine milk by the use of two types of probiotic cultures as adjuncts.** Int. J. Dairy Tech., v. 58, n.1, p. 30-38, 2005.

KEYSER, M. et al. **Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice.** Innovative. Food Science and Emerging Technologies, v.9, n.3, p.348-354, 2008.

KOIVUNEN, J.; HEINONEN-TANSKI, H. **Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatment.** Water Research, v. 39, p. 1519-1526, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2005.01.021>

KORKEALA, H. AND BJÖRKROTH, K. J. **Spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages: a review.** J. Food Prot. v.60, p.724-731, 1997.

KOTLER, Philip. **Administração de marketing: a edição do novo milênio.** 10. ed. Tradução Bazán Tecnologia e Lingüística; Revisão técnica Arão Sapiro. São Paulo: Prentice Hall, 2000.

KOUTSOUMANIS, K. P.; TAOUKIS, P. **Meat safety, refrigerated storage and transport: modeling and management.** In: SOFOS, J. N. (Ed.). Improving the safety of fresh meat. Cambridge: Woodhead, p. 503-561, 2005.

KOUTSOUMANIS, K.; STAMATIOU, A.; SKANDAMIS, P.; NYCHAS, G.J.E. **Development of a microbial model for the combined effect of temperature and pH on spoilage of ground meat, and validation of the model under dynamic temperature conditions.** Applied and Environmental Microbiology [online], v. 72, n. 1, p. 124- 134, 2006.

LABADIE, J. **Consequences of packaging on bacterial growth: meat is an ecological niche.** Meat Science, v. 52, p.299-305, 1999.

LAZAROVA, V.; SAVOYE, P.; JANEX, M. L.; BLATCHLEY, E. R.; POMMEPUY, M. **Advanced wastewater disinfection technologies: state of the art and perspectives.** Water Science and Technology, v. 40, n. 4/5, p. 203-213, 1999. [http://dx.doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00502-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00502-8)

LEISNER, J. J.; VANCANNEYT, M.; GORIS, J. et al. **Description of *Paralactobacillus selangorensis* gen. nov., sp. nov., a new lactic acid bacterium isolated from chili bo, a Malaysian food ingredient.** Int. J. Syst. Evol. Microb., v. 50, p. 19-24, 2000.

LEBERT, I.; LEBERT, A. **Quantitative prediction of microbial behaviour during food processing using an integrated modelling approach: a review.** International Journal of Refrigeration, v. 29, n. 6, p. 968–984, 2006.

LONGHI, D. A. **Avaliação da capacidade preditiva de diferentes modelos matemáticos para o crescimento microbiano em condições não-isotérmicas.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2012.

LONGHI, D.A.; DALCANTON, F.; ARAGÃO, G.M.F.; BRUNO AUGUSTO MATTAR CARCIOFI, B.A.M.; LAURINDO, J.B. **Assessing the prediction ability of different mathematical models for the growth of *Lactobacillus plantarum* under non-isothermal conditions.** Journal of Theoretical Biology, v.335, p.88-96, 2013.

LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. **Ultraviolet light and food preservation.** In: BARBOSA-CÁNOVAS, G; TAPIA, M.S.; CANO, M.P. Novel food processing Technologies. Boca Raton: CRC, 2005. 692 p.

MANZOCCO, L.; PLAZZOTTA, S.; MAIFRENI, M.; CALLIGARIS, S.; ANESE, M.; NICOLI, M. C. **Impact of UV-C light on storage quality of fresh-cut pineapple in two different packages.** LWT-Food Science and Technology, 1138-1143, 2016.

MARTINIS, E. C. P.; ALVES, V. F.; FRANCO, B. D. G. M. **Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products.** Food Reviews International, n. 18, p. 191-208, 2002.

MARTINS, W. F. **Predição do crescimento de *Weissella viridescens* sob condições não isotérmicas.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2015.

MASSAGUER, P. R. D. **Microbiologia dos processos alimentares**. São Paulo. Varela, 2006.

McDONALD, K., SUN, D.W. **Predictive food microbiology for the meat industry: A review**. International Journal of Food Microbiology [online], v. 52, p. 1-27, 1999.

McMEEKIN, T. A. ; BROWN, J. ; KRIST, K. ; MILES, D. ; NEUMEYER, K.;NICHOLS, D.S. ; OLLEY, J. ; PRESSER, K. ; RATKOWSKY, T D. A.;. ROSS, M. S.; SOONTRANON, S. **Quantitative Microbiology: A Basis for Food Safety, Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n° 4, 1997.

McMEEKIN, T. A.; MELLEFONT, L. A.; ROSS, T. **Predictive Microbiology: past, present and future**. In: BRUL, S.;VAN GERWEN, S., et al (Ed.). *Modelling Microorganisms in Food*. Boca Raton Boston New York Washington, DC: CRC Press, 2007. cap. 2, p.7-21.

MENEZEZ, N. M. C. **Efeito da adição de óleo essencial de orégano sobre a vida útil de presunto fatiado embalado a vácuo: modelagem em condições isotérmicas e não isotérmicas**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2016.

MURIANA, P. M. **Bacteriocins for Control of Listeria spp. in Food**. Journal Food Protection, n° 59 p. 54-63, 1996.

NAKASHIMA, S. M. K.; ANDRÉ, C. D. S.; FRANCO, B. D. G. M. **Revisão: Aspectos Básicos da Microbiologia Preditiva**. Brazilian Journal of food technology, v. 3, p. 41–51, 2000.

NEUMEYER, K.; ROSS, T.; McMEEKIN, T.A. Development of a predictive model to describe the effects of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads. International Journal of Food Microbiology [online], v.38, p. 45-54, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160597000895>>. Acesso em 24 de novembro de 2017.

NEW ZEALAND FOOD SAFETY AUTHORITY. 2005. **A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods**. Wellington, New Zealand.

NIVEN JR., C.F., EVANS, J.B. **Lactobacillus viridescens nov. spec., a heterofermentative species that produces a green discoloration of cured meat pigments**. J. Bacteriol. 73, 758–759, 1957.

NOSKOWA, G. L. **Microbiologia de las Carnes Conservadas por el Frio**. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-España, 1978.

NYCHAS, G.J.E.; SKANDAMIS, P.N.; TASSOU, C.C.; KOUTSOUNAMIS, K.P. 2008. **Meat spoilage during distribution**. Meat Science 78, 77-89.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: UFG, 1996. v.2.

PEIRSON, M.D., GUAN, T.Y., HOLLEY, R.A., 2003. **Thermal resistances and lactate and diacetate sensitivities of bacteria causing bologna discolouration**. Int. J. Food Microbiol. 86, 223– 230, 2003.

POZZEBON, P. H. B.; RODRIGUES, N. V. **Radiação ultravioleta em trabalhadores da construção civil: problemas e soluções.** Trabalho de Iniciação Científica - UNIFRA, 2009.

RATKOWSKY, D.A.; OLLEY, J.; McMEEKIN, T.A.; BALL, A. **Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures.** J. Bacteriol. 149, p.1–5, 1982.

RATKOWSKY, D.A., LOWRY, R.K., McMEEKIN, T.A., STOKES, A.N. & CHANDLER, R.E. **Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range.** Journal of Bacteriology, v.154, p.1222-1226, 1983.

REIS, R. A. A.; SANTOS, W. L. M.; OLIVEIRA, A. L. 12/1999. **Identificação da Hidroxiprolina como Índice de Qualidade de Salsicha Comercializada em Belo Horizonte-MG.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 51 (6): 589-594.

RESENDE, M. F. S.; COSTA, H. H. S.; ANDRADE, E. H. P. et al. **Queijo de minas artesanal da Serra da Canastra: influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias ácido lácticas.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.63, n.6, p.1567-1573, 2011.

RICE, E.E. Contenido en nutrientes y valor nutritivo de la carne e productos cárnicos. In: PRICE, J.F.; SCHWEIGERT, B.S., ed. **Ciência de la carne y de los productos cárnicos.** Zaragoza: Acribia, 1976. p.295-338.

ROSS, T. **Belehradek-type models.** J. Ind. Microbiol., v.12, p. 180– 189, 1993.

ROSSI, G. M. T. **Estudo da redução do cloreto de sódio (NaCl) em embutidos de massa fina: salsicha.** Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Tecnológica Federal Do Paraná, Campo Mourão. 2014.

SALGADO, Joclem M; GALVÃO, MariaT.E.L; STORER, Maria de Lourdes P. BRAZACA, Solange G.C. **Utilização da carne de capivara na elaboração de salsicha e fiambre.** B.CEPPA, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 83-92, jan./jun.1999

SAMELIS, J.; KAKOURI, A.; REMENTZIS, J. **Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 degrees C.** Food Microbiology, v. 17, n. 3, p. 329-340, 2000a.

SAMELIS, J.; KAKOURI, A.; REMENTZIS, J. **The spoilage microflora of cured, cooked turkey breasts prepared commercially with or without smoking** Int. J. Food Microbiol., v.56, p. 133–143, 2000b.

SARANTÓPOULOS, C.I. G. L.; OLIVEIRA, L. M. **Sistemas de embalagens plásticas para preservação de carne bovina e derivados.** In: Ciência e Tecnologia da Carne Bovina. Campinas: CTC/ITAL, p. 58-70, 1994.

SCHILLINGER, U., HOLZAPFEL, W.H., BJÖRKROTH, K.J., 2006. **Lactic acid bacteria.** In: Blackburn, C.d.W. (Ed.), Food Spoilage Microorganisms. Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, pp. 541–578, 2006.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO. **Instrução Normativa SDA - 4, de 31/03/2000.** Disponível em <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-4-de-31-03-2000,662.html>> Acesso em 23 de novembro de 2017.

SEELIG, M. **Radiação ultravioleta.** Disponível em <<http://www.segurancaetrabalho.com.br/download/rad-uv-seelig.pdf>> Acesso em 23 de novembro de 2017.

SHEN, Y.; SUN, Y.; QIAO, L.; CHEN, J.; LIU, D.; YE, X. **Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated storage.** *Postharvest Biology and Technology*, v. 76, p. 50-57, 2013.

SILVA, N. B. **Modelagem matemática do crescimento de *Lactobacillus viridescens* sob condições não isotérmicas em presunto fatiado embalado a vácuo.** Mestrado em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015.

SLONGO, A.; ROSENTHAL, A.; CAMARGO, L. M. Q.; DELIZA, R.; MATHIAS, S. P.; ARAGÃO, G. M. F. **Modeling the growth of lactic acid bacteria in sliced ham processed by high hydrostatic pressure.** *Food Science and Technology*, v.42, p.303-306, 2009.

SMITH, M.G. **The generation time, lag time, and minimum temperature of growth of coliform organisms on meat, and the implications for codes of practice in abattoirs.** *J. Hygiene Camb.* 64, 298– 300, 1985.

SOPER, H. E. et al. **On the Distribution of the Correlation Coefficient in Small Samples.** Appendix II to the Papers of "Student" and R. A. Fisher. *Biometrika*, v. 11, n. 4, p. 328-413, 1917.

SOUZA, F. C. **Utilização de radiação UV-C e atmosfera modificada para conservação figo após a colheita,** 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola, área Pós Colheita). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

TANNOCK, G. W.; TILSALA-TIMISJARVI, A.; RODTONG, S. et al. **Identification of *Lactobacillus* isolates from the gastro-intestinal tract, silage and yoghurt by the 16S-23S rDNA gene intergenic spacer region sequence comparisons.** *Appl. Env. Microb.*, v. 65, n. 9, p. 4264- 4267, 1999.

TAVARES, T.M. **Avaliação microbiológica de hambúrgueres de carne bovina comercializados em sanduicherias tipo “trailers” no centro e na periferia de goiânia/GO.** Goiânia, GO, 2002. (Mestrado em Medicina tropical) - Universidade Federal de Goiás, 2002.

TIECHER, A. **Efeito da radiação UV-C na expressão gênica e nas respostas bioquímico-fisiológicas em frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.),** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

TREMARIN, A. **Modelagem matemática do crescimento de em suco e maçã solidificado sob condições isotérmicas e não isotérmicas.** Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, p. 217, 2015.

VAN IMPE, J. F.; NICOLAI, B. M.; MARTENS, T.; BAERDEMAEKER, J. VANDEWALLE, J. **Dynamic mathematical model to predict microbial growth and inactivation during food processing.** Applied and Environmental Microbiology, v.58, n.9, p.2901-2909, 1992.

VAN IMPE, J.; POSCHET, F.; GEERAERD, A.; VEREECKEN, K. **Towards a novel class of predictive microbial growth models.** International Journal of Food Microbiology, v. 100, n. 1-3, p. 97-105, 2005.

VITALI, A. A.; QUAST, D. G. 1996. **Reações de Transformação e Vida de Prateleira de Alimentos Processados.** Manual Técnico Nº 06, Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL, 2ª Edição, Campinas-SP.

WHITING, R.; BUCHANAN, R. **A classification of models in predictive microbiology - reply.** Food Microbiology, v. 10, n. 2, p. 175-177, 1993.

WIJTZES, T. et al. **Development and validation of a combined temperature, water activity, pH model for bacterial growth rate of *Lactobacillus curvatus*.** International Journal Food Microbiology, v. 63, p. 57-64, 2001.

ZDANSKI, S. F. R. **Ácidos orgânicos e seus sais e nisina no controle de bactérias lácticas, aeróbias mesófilas e *Listeria monocytogenes* em salsichas.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

ZWIETERING, M. H, KOOS, J. T.; HASENACK, B. E.; WIT, J. C.; RIET, K. V. **Modeling of bacterial growth as a function of temperature.** Applied and Environmental Microbiology, v. 57, p. 1094-1101, 1991.

ZWIETERING, M H, Wit, JC, CUPPERS, HGAM, Van't Riet, K. **Modeling of bacterial growth with shifts in temperature.** Appl Environ Microbial 1994; 60: 204-13.

ZWIETERING, M. H.; DEN BESTEN, H. M. W. **Modelling: One word for many activities and uses.** Food Microbiology, v. 28, p. 818-822, 2011.